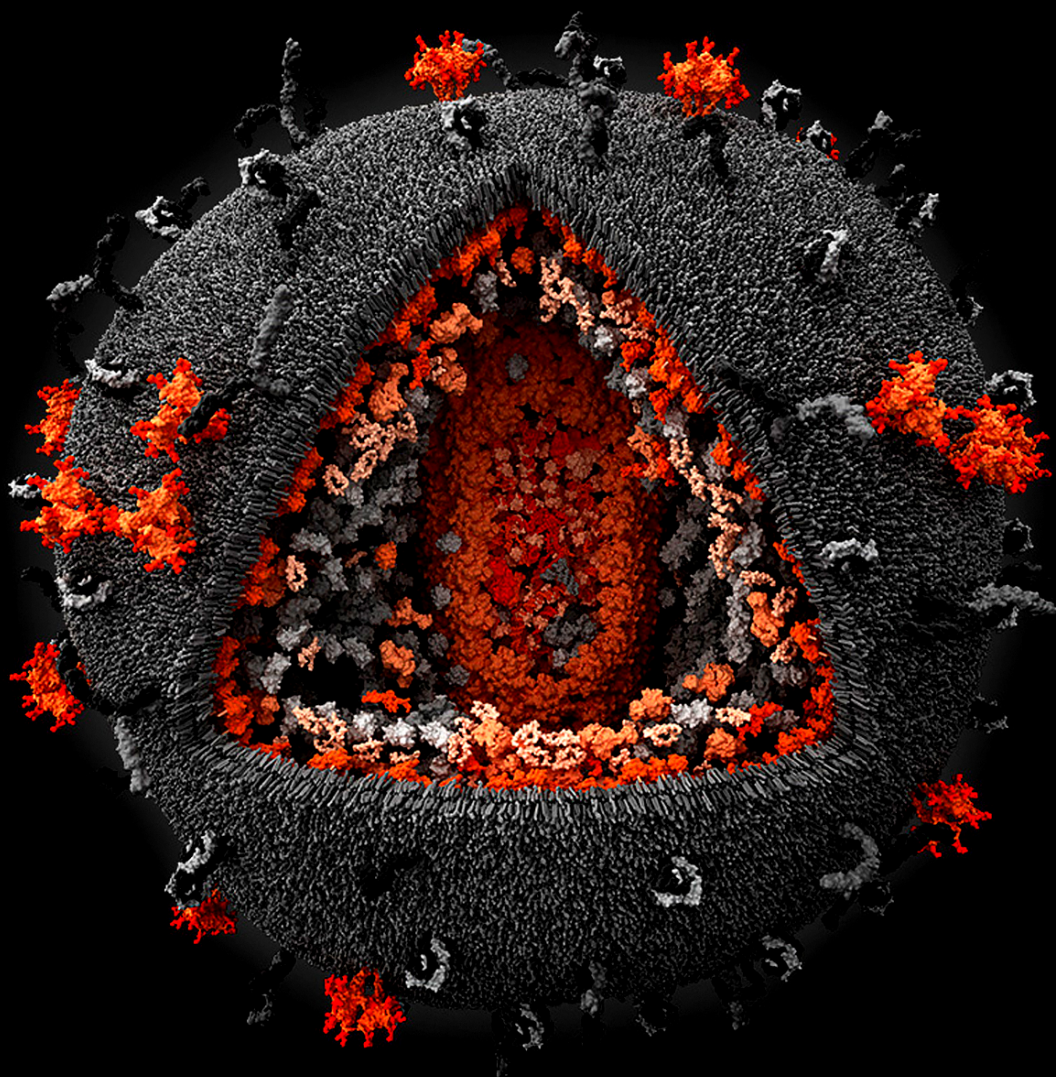


Міністерство освіти і науки України  
Харківський національний педагогічний університет імені Г.С. Сковороди

Шамрай С.М., Леонтьєв Д.В.

# ВІРУСОЛОГІЯ

ПІДРУЧНИК



Харків 2020

Міністерство освіти і науки України  
Харківський національний педагогічний університет  
імені Г.С. Сковороди

*До 215-річчя  
створення університету*

Шамрай С. М., Леонт'єв Д.В.

# ВІРУСОЛОГІЯ

ПІДРУЧНИК

Харків – 2020

Ш19  
УДК 578  
ББК 28.3

Рекомендовано до друку Вченою радою Харківського національного педагогічного університету імені Г.С. Сковороди (протокол №8 від 20.12.2019)

**Р е ц е н з е н т и :**

**Маменко О.М.**, член-кореспондент НААН України, академік УАН, завідувач кафедри прикладної екології ім. О. А. Колесова, доктор сільськогосподарських наук, професор.

**Шкорбатов Ю.Г.**, професор кафедри молекулярної біології та біотехнології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна, доктор біологічних наук, професор.

**Маркіна Т.Ю.**, декан природничого факультету Харківського національного університету імені Г.С. Сковороди, доктор біологічних наук, професор.

**Шамрай С. М.**

Ш19 Вірусологія: підручник / С. М.Шамрай, Д.В. Леонт'єв. – Х.: Харківський національний педагогічний університет імені Г.С. Сковороди, 2019. – 244 с.

У підручнику розглянуті основні аспекти загальної та спеціальної вірусології. Розглянуто історію дослідження вірусів, принципи їхньої організації, проблему належності вірусів до живого світу, основи систематики вірусів. Детально описується цикл репродукції вірусів, їхня взаємодія з клітиною та в цілому з організмом хазяїна. Окремлено проблеми походження та еволюції вірусів, методи дослідження та ідентифікації вірусів. Останній розділ підручника присвячений огляду основних представників групи, що вражають людину і тварин. Підручник призначено для студентів освітнього рівня бакалавр спеціальностей 091 Біологія, 014 Середня освіта (Біологія) та 014 Середня освіта (Природничі науки).

© Шамрай С. М., Леонт'єв Д.В.  
© Харківський національний педагогічний університет імені Г.С. Сковороди

---

На обкладинці зображена комп'ютерна модель віріона ВІЛ. Модель створена компанією Virtual Science за участі Єгора Вороніна (Global HIV Vaccine Enterprise). Це зображення одержало приз за кращу наукову ілюстрацію на конкурсі Science and Engineering Visualization Challenge у 2011 р.

# ВСТУП

## Ми живемо в океані вірусів

Сказати, що віруси повсюдно поширені, – це не сказати нічого. Віруси знайдені в усіх організмів, перевірених на їхню присутність, від бактерій і архей до троянди і людини. Більш того, існує чітка кореляція між ступенем дослідженості певного виду і кількістю вірусів, знайдених у нього. Природно, найбільшу увагу привертають віруси, що інфікують наш власний вид. Тож не дивно, що перелік відомих вірусів людини є значно ширшим за переліки, складені для інших видів. Втім, у цьому питанні у людини є своєрідний «конкурент»: кишкова паличка *Escherichia coli*. Ця бактерія є модельним об'єктом для найрізноманітніших біологічних досліджень, тож і в неї також виявлено дуже багато вірусів. Очевидно, що будь-який інший вид, одержавши таку увагу, як люда чи кишкова паличка, теж міг би «похизуватися» тисячами паразитуючих на ньому видів вірусів. Відповідно, перелік вірусів, відомий на сьогодні, є лише краплею в океані вірусів, що оточує нас.

Кожна дитина знає, що вірусні інфекції призводять до негативних, часто небезпечних наслідків. Проте чимало вірусів не заподіюють шкоди своїм хазяям. Більш того, генетичний матеріал вірусів, що інтегрується у геном хазяїв, поступово стає життєво необхідною частиною їхнього власного генофонду. Так, принаймні 8% генетичного матеріалу людини є геномами ретровірусів, що у різні часи вбудувалися в наші хромосоми. Існують серйозні докази того, що віруси зіграли важливу роль у виникненні еукаріотичної клітини, статевого процесу, плаценти. Без вірусів живий світ нашої планети був би цілковито іншим.

## Чому необхідно досліджувати віруси?

Найочевидніша мета дослідження вірусів – боротьба з хворобами, що ними спричиняються. Вірусні захворювання не тільки суттєво впливають на якість життя кожної людини, але і подекуди стають важливими чинниками розвитку суспільства: в минулому такий вплив мала віспа, нині – СНІД. Тож людині конче потрібне розуміння природи вірусів, знання процесів їх відтворення, інфікування господаря і спричинення захворювань. Саме такі знання дозволяють розробляти ефективні заходи із запобігання, діагностики і лікування вірусних інфекцій, починаючи від звичайнісінької застуди і закінчуючи летальними хворобами на кшталт сказу, СНІДу та деяких типів злоякісних пухлин.

Не менш важливою для людини є також ветеринарна вірусологія і вірусологія рослин, оскільки вірусні хвороби свійських тварин і культурних рослин значно знижують продуктивність сільського господарства. Віруси-бактеріофаги можуть заражати молочнокислі бактерії, за допомогою яких виготовляються сири, йогурти і інші молочні продукти, що призводить до серйозних збитків харчової промисловості.



Втім, віруси не варто розглядати як цілковито шкідливі об'єкти: вчені могли змусити деяких із них приносити людині користь. Деякі приклади практичного використання вірусів наведені нижче.

**Ідентифікація бактерій за допомогою бактеріофагів.** У окремих груп бактерій, наприклад у видів роду *Salmonella*, штами прийнято розрізняти на основі спектру фагів, до яких вони чутливі. Ідентифікація бактерійних ізолятів надає важливу епідеміологічну інформацію підчас спалахів захворювань, що викликаються цими бактеріями.

**Віруси як джерела ферментів.** Низка ферментів, які використовують в молекулярній біології, одержані від вірусів. Прикладами є зворотна транскриптаза ретровірусів та РНК-полімераза фагів.

**Віруси як пестициди.** Віруси допомагають контролювати чисельність організмів, що завдають шкоду господарству. Так, чисельність деяких комах-шкідників контролюють за допомогою бакуловірусів, а вірус міксоми (збудник міксоматозу) використовується для контролю чисельності кроликів.

**Віруси як антибактерійні агенти.** В середині ХХ ст. бактеріофаги використовували для лікування деяких бактерійних захворювань людини. Інтерес до них впав після відкриття антибіотиків, проте знову відродився з появою стійких до антибіотиків штамів бактерій.

**Віруси як протиракові агенти.** Проводяться дослідження з обробки злоякісних пухлин генетично модифікованими вірусами, наприклад вірусом простого герпесу та вірусом коров'ячої віспи. Вони модифіковані таким чином, що специфічно заражають і руйнують лише клітини пухлини, але не нормальні клітини.

**Віруси як вектори для генної інженерії.** Деякі бакуловіруси і аденовіруси використовують як вектори для вбудовування генів в культивовані клітини тварин. Ця технологія дозволяє включати до тваринних клітин гени, які кодують корисні білки, наприклад компоненти вірусних вакцин.

**Віруси як вектори в терапії генетичних захворювань.** Діти з важким комбінованим імунodefіцитом успішно лікуються з використання ретровірусу. Він використовується для вбудовування в стовбурові клітини немутантних копій генів, втрата яких стала причиною захворювання.

Предмет вірусології, її місце серед біологічних наук

Вірусологія – наука про віруси. Виникнувши наприкінці ХІХ століття як гілка патології людини і тварин, з одного боку, і фітопатології – з іншого, вірусологія стала самостійною наукою, що займає чільне місце серед головних напрямів біології.

Як і будь-яка інша наука, вірусологія поділяється на розділи. *Загальна вірусологія* вивчає природу вірусів, їхню морфологію, біологію, біохімію, генетику.

*Медична, ветеринарна і сільськогосподарська вірусологія* досліджують патогенні віруси, їхні інфекційні властивості, розробляють заходи попередження, діагностики і лікування вірусних захворювань.

Вірусологія тісно пов'язана з іншими науками. Відкриття і дослідження вірусів, зокрема бактеріофагів, робило величезний внесок у становлення і розвиток молекулярної біології. Розуміння спадкових властивостей вірусів тісно пов'язане з молекулярною генетикою. Віруси є поширеним інструментом досліджень генетичної трансформації організмів, що зв'язує вірусологію з генетичною інженерією. Віруси є збудниками численних інфекційних захворювань людини, тварин, рослин, протистів і бактерій, що пов'язує вірусологію з медициною, ветеринарією, фітопатологією та іншими науками.

Об'єктом досліджень у вірусології є не лише віруси. Ряд нещодавно виявлених інфекційних агентів неклітинної природи також досліджується вірусологами. До «невірусних» об'єктів вірусології належать *віроїди* (інфекційні молекули РНК), *вірусоїди* (аналоги віроїдів, що відтворюються у присутності вірусу-помічника) та *пріони* (білкові інфекційні частки, здатні перетворювати нормальні білки організму на ідентичні собі інфекційні молекули). Про них у цій книзі теж ітиме мова.

## Розділ 1. Що таке віруси?

### 1.1. Історія вірусології

#### **Перші свідчення про вірусні хвороби людини та способи боротьби із ними.**

Вірусні хвороби людини, тварин і рослин були відомі задовго до відкриття вірусів і навіть до самого встановлення інфекційної природи хвороб. Ймовірно, найдавнішим зображенням симптомів вірусної хвороби людини є давньоєгипетська стела 1500–1700 рр. до н. е. із фігурою жерця, хворого на поліомієліт (Мал. 1.1). Поліомієлітом страждав також фараон Сиптах, який помер у молодому віці близько 1187 р. до н. е. Вивчення його мумії, знайденої в 1905 р., виявило, що ліва нога була всохлою і мала характерні ознаки цієї хвороби.



***Мал. 1.1.** Давньоєгипетська стела, знайдена на розкопках Мемфісу і датована приблизно 1500–1700 рр. до н.е., на якій зображений жрець, хворий на поліомієліт, з властивими цій хворобі видимими симптомами, передусім атрофією кінцівки. Зміст цього рельєфу – звернення хворого до богів з проханням про цілення. Про це говорять священна чаша в руках хворого і жертвна тварина, яку веде слідом за ним дружина.*

У староегипетських папірусах є і згадки про віспу. На шкірі мумії фараона Рамзеса V, що помер від віспи в 1143 (1145?) р. до н. е., знайдені численні виразки, типові для цієї хвороби (Мал. 1.2).



*Мал. 1.2. Голова мумії фараона Рамзеса V, який помер від віспи в 1145 (1143?) р. до н. е.*

Ще одне вірусне захворювання, сказ, було згадане в працях давньогрецького філософа Аристотеля (384–322 рр. до н. е.), який вказував на зв'язок сказу з укусами собак. Давньоримський філософ і лікар Цельс (бл. 25 р. до н. е. – бл. 50 р. н. е.) уперше детально описавши сказ, назвав це захворювання гідрофобією (водобоязню).

Попри те, що люди не знали і не розуміли причин інфекційних хвороб і пов'язували їх з гнівом богів або підступами демонів, спостережливість людини дозволила зробити деякі правильні висновки. Стародавні лікарі помітили, що

люди, які перехворіли віспою, повторно нею не заражаються. На цьому спостереженні вони побудували перший метод запобігання зараженню віспою, який дістав назву **варіоляції** (від латинської назви віспи – *variola*). Суть її полягала в тому, що вміст пустул (гноячків) від пацієнтів, що хворіли на легку форму віспи, вносили в маленьку ранку на шкірі людини. Це викликало легке захворювання і попереджало виникнення важкої форми хвороби. Варіоляція була відома на Сході принаймні з Ранняго Середньовіччя: в Індії про неї збереглися записи VIII ст., а в Китаї – X ст. У Європу ця методика була уперше привезена з Туреччини дружиною британського посла в Константинополі Мері Вортлі Монтегю в 1718 р. Дізнавшись про варіоляцію у турок, вона прищепила свого шестирічного сина. Після дослідів над злочинцями і дітьми з церковних притулків, віспа була прищеплена членам родини британського короля Георга I. У наступні вісім років в Англії віспа була прищеплена 845 людям, з яких 17 не витримали її і померли. Таким чином, під час першого масового використання у Європі варіоляція дала 2% смертності. Але ж сама віспа призводила до в 10–20 разів більшої смертності, тож, не зважаючи на певні ризики, варіоляція здобула широку популярність. Проте цей метод все ж таки мав непереборну ваду: він сам міг викликати епідемію. Тож врешті варіоляція була заборонена: у Франції у 1762 р., а в Англії – у 1840 р.

Переворот у боротьбі з віспою вчинив англійський лікар Едвард Дженер. Ще у молодому віці він почув фермерське повір'я, що доярки, які перехворіли коров'ячою віспою, ставали несприйнятливі до віспи натуральної. У 1765 р. лікарі Суттон і Фьюстер повідомили Лондонське медичне товариство, що віспа у дійних корів, якщо нею заражається людина, оберігає її від захворювання натуральною людською віспою. Однак товариство визнало їх спостереження випадковістю, яка не заслуговує на подальші дослідження. У 1768 р., під час чергової епідемії віспи, спостереження Суттона і Фьюстера спробував перевірити Дженер. У 1789 і 1790 рр. він зробив щеплення коров'ячої віспи своєму синові і його годувальниці. Обидва не захворіли на натуральну віспу, і лікар звернувся до колег по допомогу щодо перевірки свого спостереження. На жаль, він не отримав підтримки, тож змушений був і далі працювати сам. Впродовж наступних років Дженер продовжував експерименти з щепленнями коров'ячої віспи і 14 травня 1796 р., отримавши згоду батьків Джеймса Фіпса, хлопчика з Берклі, Дженер зробив йому щеплення проти віспи, скориставшись матеріалом з рани не корови, а жінки, зараженої коров'ячою віспою. Через два тижні дитина, що ніколи раніше не хворіла на натуральну віспу, видужала. 1 липня 1796 дослідник прищепив Джеймсу вже натуральну, «людську» віспу. Захворювання не виникло.

Результати своїх експериментів Дженер виклав в статті, представлений 10 липня 1798 р. Королівському науковому товариству. Однак робота була проігнорована «за недостатністю доказів». Але Дженер не здався. Він продовжив свої



досліди і в 1798 р. опублікував 64-сторінкову монографію «Дослідження причин і дії коров'ячої віспи», а в наступні роки – ще три книги з тієї ж тематики.

Оскільки перша вакцина являла собою, власне кажучи, коров'ячу форму віспи, а корова на латині називається *vacca*, Луї Пастер назвав винайдену Дженером процедуру **вакцинацією**.

У 1800 р. вакцинація була визнана обов'язковою в англійській армії і на флоті, і з цієї миті щеплення від віспи почали поширюватися у інших країнах світу. У 1980 р. ООН оголосила про повну ліквідацію натуральної віспи на Землі.

**Перші свідчення про вірусні хвороби рослин.** Вірусні захворювання рослин поширені так само широко, як і захворювання людини і тварин, але з цілком зрозумілих причин вони привертали меншу увагу. Можливо, перша відома згадка про вірусну хворобу рослини зустрічається у вірші зі збірки японської лірики «Манйосю» («Збірка міриад листя»), написаної імператрицею Кокен влітку 752 р. У дуже довільному викладі рядки японської імператриці є приблизно такими:

*У цьому селі  
Невже увесь час були приморозки?  
У рослин, які я бачила  
Влітку в полі  
Було пожовкле листя.*

Рослини, про які йде мова, в японському оригіналі названі точно, це *Euratorium lindleyanum*, або сідач Ліндлея. Згадана рослина сприйнятлива до вірусу кучерявості листя тютюну, який і викликає пожовтіння ураженого листя.

Першими зображеннями рослин, вражених вірусними хворобами, імовірно є картини та малюнки голандських майстрів, створені у період «тюльпаноманії», у 1600–1637 рр. Квітки тюльпанів, уражених вірусом мозаїки, ставали рябими, строкатими (Мал. 1.3). Ця ознака помилково вважалася сортовою, тож цибулини, одержані від враженої рослини, цінувалися в Голландії дуже дорого: в 1635 р. одна така цибулина могла коштувати до 6000 голландських гульденів. Досвідчений ремісник у той час одержував до 300 гульденів на рік.

**Відкриття вірусів.** До кінця XVIII – початку XIX ст. вже було добре відомо, що чимало захворювань є «заразними», тобто можуть передаватися від хворої людини здоровій. У другій половині XIX ст., завдяки відкриттям Луї Пастера і Роберта Коха, збудники багатьох хвороб тварин і людини були знайдені: ними виявилися бактерії. За результатами своїх досліджень Кох сформулював знамениті **постулати**, які використовували для доказу, що мікроорганізм дійсно є збудником певної хвороби. Нижче ці постулати наведені в дещо осучасненому вигляді.



*Мал. 1.3. Малюнок тюльпана, ураженого вірусом мозаїки. Бальтазар ван дер Аст, 1620-і рр.*

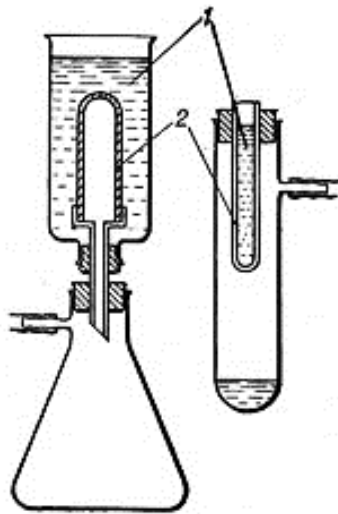
1. Мікроорганізм постійно трапляється в організмі хворих, але відсутній у здорових особин;
2. Мікроорганізм виділяється з хворого організму і росте в чистій культурі;
3. Під час зараження чистою культурою мікроорганізму здорова особина захворює;
4. Мікроорганізм повторно виділяється з експериментально зараженої особи.

Перші три постулати відомі також як **тріада Коха**.

Принципи, закладені Кохом, дозволили довести інфекційну природу багатьох хвороб. Але наприкінці XIX ст. з'ясувалося, що ціла низка захворювань людини, а саме сказ, віспа, грип, жовта лихоманка, хоча й є інфекційними, ніби не відповідають постулатам Коха. Збудники цих хвороб були цілковито невловимі: вони не виявлялися під мікроскопом і не росли в чистій культурі. У 1890 р. на X конгресі гігієністів Р. Кох вимушений був заявити, що «у випадку перерахованих хвороб ми маємо справу не з бактеріями, а з організованими збудниками, які належать до зовсім іншої групи мікроорганізмів». Так була вперше сформульована думка про існування групи збудників інфекційних захворювань небактерійної природи. Залишалося лише експериментально довести їхнє існування.

Успіх, як не дивно, був досягнутий не в царині медицини чи ветеринарії, а в галузі дослідження інфекційних хвороб рослин, тобто у фітопатології. Посадкам тютюну значної шкоди завдавало захворювання, що викликало мозаїчність листя. У 1886 р. німецький вчений Адольф Майер, що працював в Голландії, показав, що сік рослин, хворих на мозаїчну хворобу, викликає у здорових рослин таке ж захворювання.

В цей же час мозаїчною хворобою тютюну займалися вчені Російської імперії, серед яких був і Дмитро Йосипович Івановський. Працюючи у Микитському ботанічному саду (АР Крим, Україна), Івановський показав, що сік хворих рослин, пропущений крізь *свічку Шамберлана* – пристрій, що затримує усі відомі у той час бактерії (Мал. 1.4) – залишається інфекційним. Натомість, прогрівання соку до 60–70°C позбавляло його інфекційності, що свідчило про біологічну природу збудника. У тканинах уражених рослин дослідник спостерігав «кристали Івановського» – структури, які в подальшому виявилися кристалізованими вірусними частками. Однак Івановський не усвідомив, що має справу з особливою формою життя. Він вирішив, що збудник тютюнової мозаїки є дуже маленькою бактерією, «бактерією, що фільтрується». Результати своєї роботи Д.Й. Івановський опублікував у книзі «Про дві хвороби тютюну» в 1892 р. Цей рік і вважається роком відкриття вірусів.



**Мал. 1.4.** Свічка Шамберлана. 1 – фільтрована рідина, 2 – свічка.

Шарль Едуард Шамберлан (Ch. E. Chamberland, 1851–1908) – французький бактеріолог, друг і учень Луї Пастера, виготовляв «свічки» з фарфору з дуже маленькими порами, що не пропускають бактерій.

У 1898 р. голландець Мартін Бейерінк повторив експерименти з фільтрації екстрактів рослин тютюну, уражених мозаїкою. Він не лише підтвердив спостереження Івановського, але й з'ясував, що патоген здатний репродукуватися і поширюватися в клітинах хазяїна. Водночас, на відміну від відомих у ті часи бактерій, збудник тютюнової мозаїки не ріс у живильному розчині. З цього випливало, що він не є бактерією. Зауважимо, що сьогодні ми знаємо сотні видів бактерій, які не культивуються на простих поживних середовищах. Але Байерінку

це не було відомо, тож він зробив правильний висновок про небактерійну природу захворювання з неправильної посилки.

Щоб підкреслити небактерійну природу цього агенту Бейерінк увів для нього поняття **вірус**. Втім, первинне значення цього слова суттєво відрізнялося від сучасного. Бейерінк вважав, що вірус є рідкою матерією (лат. *virus* – отрута). Розчин, що містив віруси, він називав *contagium vivum fluidum* (заразною живою рідиною). Слід зазначити, що Бейерінк визнавав пріоритет Івановського у факті відкриття вірусів.

Загальну відповідь у питання щодо природи вірусів зміг дати німецький бактеріолог Фрідріх Леффлер, який у 1898 р. відкрив вірус ящуру. Працюючи разом з Паулем Фрошем, Леффлер виявив, що збудник ящуру хоча й вільно проходить крізь фільтр Шамберлана, але затримується на *фільтрі Kimasato*, якій має іще менші пори. На основі цього спостереження Леффлер зробив вірний висновок, що віруси мають корпускулярну природу, тобто є частинками, а не рідиною, як вважав Бейерінк.

Таким чином, честь бути основоположниками вірусології належить трьом дослідникам – росіянинові Дмитру Івановському, що відкрив здатність збудника мозаїки тютюну проходити крізь бактерійні фільтри, голландцю Мартіну Бейерінку, що показав небактерійну природу збудника цієї хвороби і запропонував назву вірус, і німцю Фрідріху Леффлеру, який показав, що віруси мають корпускулярну природу (Мал. 1.5).



**Мал. 1.5.** Основоположники вірусології (зліва направо): Івановський Дмитро Йосипович (1864 – 1920), Бейерінк Мартін Віллем (1851 - 1931), Леффлер Фрідріх Август Йоганн (1852 – 1915).

Певний час терміни «вірус» і «бактерія» використовували практично як синоніми; вірусом могли називати будь-який хвороботворний агент. Тільки після того, як стала зрозуміла природа клітинних інфекційних агентів, а також отрут і токсинів, терміном «ультравірус», а надалі просто «вірус» стали означати збудника, що фільтрується. Остаточного термін «вірус» укорінився в 30-і роки XX ст.

Подальша історія досягнень вірусології безпосередньо пов'язана з розвитком методології досліджень. У кінці XIX – на початку XX ст. основним методом ідентифікації вірусів залишався метод фільтрації через бактерійні фільтри. З використанням здатності до фільтрації через бактеріологічні фільтри. В цей час були відкриті ціла низка вірусів:

- 1892 р. – вірус тютюнової мозаїки
- 1898 р. – вірус ящуру
- 1899 р. – вірус чуми рогатої худоби
- 1900 р. – вірус жовтої лихоманки
- 1902 р. – вірус віспи птахів і овець
- 1903 р. – вірус сказу
- 1904 р. – вірус віспи людини
- 1905 р. – вірус чуми собак
- 1907 р. – вірус лихоманки денге
- 1909 р. – вірус поліомієліту
- 1916 р. – вірус кору
- 1917 р. – вірус простого герпесу
- 1926 р. – вірус везикулярного стоматиту
- 1931 р. – вірус грипу свиней.

У 1911 р. американський патолог Френсіс Раус довів вірусну природу злоякісної пухлини курей – саркоми Рауса.

У 1915 р. англійський бактеріолог Ф. Туорт, досліджуючи причини лізису бактерійних колоній, описав принцип передачі «лізису» новим культурам у ряді поколінь. У 1917 р. канадський бактеріолог Ф. д'Ерель довів, що лізис бактерій пов'язаний з агентом, що фільтрується, і назвав цей агент бактеріофагом. Дослідження М. Барнета, який працював в Мельбурні в 1924–34 рр., показали широку різноманітність бактерійних вірусів за фізичними і біологічними властивостями. Це відкриття викликало великий науковий інтерес, і наприкінці 1930-х рр. троє дослідників – фізик М. Дельбрюк, бактеріологи С. Лурія і А. Херші, які працювали в США, створили неформальну «фагову групу», дослідження якої зрештою стали одним з наріжних каменів у фундаменті нової науки – молекулярній біології.

Значну проблему під час роботи з вірусами становила неможливість культивування цих об'єктів поза живою клітиною, в чистих культурах. У 1930-і роки цю проблему вирішували шляхом розведення вірусів у живих лабораторних тваринах (дорослих білих мишах – для вірусів грипу, новонароджених мишах – для вірусів Коксаки, шимпанзе – для вірусу гепатиту В, курях і голубах – для онкогенних вірусів, поросятах – для кишкових вірусів тощо). Першим, хто почав систематично використовувати лабораторних тварин під час дослідження вірусів, був Луї Пастер, який ще в 1881 р. проводив дослідження з інокуляції матеріалу від хворих сказом в мозок кролика.



У 1931 р. для виділення вірусів почали використовувати курячі ембріони, які мають високу чутливість до вірусів грипу, віспи, лейкозу, саркоми курей і деяких інших вірусів. Ще й досі курячі ембріони широко використовують для виділення вірусів грипу.

**З'ясування природи вірусів.** У 1932 р. англійський хімік В. Елфорд створив штучні дрібнопористі колоїдні мембрани і використав їх для *ультрафільтрації* біологічних рідин. Це дало можливість визначити розмір вірусних часток і диференціювати їх за цією ознакою. З використанням цього методу Елфорд з'ясував, що розмір вірусних часток знаходиться в межах 20–200 нм.

У 1935 р. американський біохімік У. Стенлі вперше отримав чистий препарат вірусу тютюнової мозаїки у вигляді кристалічного білка. Оскільки приготованим з кристалів розчином білка можна було заразити рослини, Стенлі зробив висновок, що віруси складаються з білка.

У 1937 р. англійські біохіміки Ф. Боуден і Н. Пірі уточнили спостереження У. Стенлі і встановили, що вірус тютюнової мозаїки містить 94% білка, а ще 6% припадає на нуклеїнову кислоту. Так було встановлено, що вірусна частка є нуклеопротеїном.

У 1939 р. для вивчення вірусів уперше був застосований електронний мікроскоп. Так почалось дослідження структури вірусних часток.

У 1949 р. була відкрита можливість культивування тваринних клітин в штучних умовах, що надалі дозволило використати ці культури для вирощування вірусів. Введення у вірусологію методу культури клітин стало важливою подією, бо значно полегшило створення противірусних вакцин. З широко вживаних нині культуральних вакцин, створених завдяки цьому методу, зазначимо вакцини проти поліомієліту, паротиту, кору і краснухи.

У 1949 Р. Маркхем і К.М. Сміт виявили, що у препараті вірусу жовтої мозаїки турнепсу присутні два типи ідентичних сферичних частинок; частинки одного типу містили нуклеїнову кислоту, а іншого – ні. При цьому інфекційними виявилися лише частинки з нуклеїновою кислотою. Це відкриття сприяло усвідомленню ролі нуклеїнових кислот як носіїв спадкової інформації.

У 1948–1949 рр. А. Херші і Р. Ротман побудували першу генетичну карту бактеріофага T2.

У 1952 р. А. Херші і М. Чейз виявили, що для зараження бактерійної клітини бактеріофагом достатньо, щоби в бактерію проникла ДНК бактеріофага.

У 1956 р. А. Гірер і Г. Шрамм, а також Х. Френкель-Конрат встановили, що генетичним матеріалом вірусу тютюнової мозаїки є РНК.

У 1971 р. було встановлено, що деякі хвороби рослин, збудниками яких вважали віруси, насправді викликаються віроїдами – об'єктами, що складаються лише з РНК та не містять білків. Ці агенти відкрив і дав їм назву американський фітопатолог Теодор Дінер.

У 1982 р. американський лікар С. Прузинер виділив інфекційний агент, що має білкову природу і не містить нуклеїнових кислот. Вчений назвав цей агент пріоном.

У 1983 р. був відкритий вірус імунодефіциту людини.

У 2002 р. в Нью-Йоркському університеті був створений перший синтетичний вірус (вірус поліомієліту).

**Віруси та біологічні відкриття.** Починаючи з 1960-х р. XX ст. розвиток вірусології є тісно пов'язаним з молекулярною біологією. Жодне велике відкриття у галузі молекулярної біології не обходилося без вірусної моделі. Зокрема, дослідження експресії генів у вірусів еукаріотів дало фундаментальну інформацію про молекулярну біологію самих еукаріотів – існування кеп-структури мРНК та її роль у трансляції, наявність поліаденілової послідовності на 3'-кінці мРНК, сплайсинг і роль енхансерів в транскрипції уперше були виявлені саме під час дослідження вірусів тварин.

Дослідження вірусів відіграло надважливу роль у розвитку епідеміології, імунології, молекулярної генетики та інших розділів біології. У різні роки як мінімум шість Нобелівських премій з фізіології та медицини і три Нобелівські премії з хімії були вручені за дослідження, безпосередньо пов'язані з вивченням вірусів.

## 1.2. Природа вірусів

**Чим є віруси?** Уявлення про природу вірусів змінювалися з розвитком вірусології. Як ми пам'ятаємо з попереднього розділу, у різні часи щодо цього були висунуті такі гіпотези:

- віруси є дуже дрібними бактеріями (Д. Івановський);
- віруси є токсичною речовиною (М. Бейерінк);
- віруси є частками незрозумілої природи (Ф. Леффлер);
- віруси є білковими частками (У Стенлі);
- віруси є частками, що складаються з білка та нуклеїнової кислоти (Ф. Боуден і Н. Пірі).

Остання гіпотеза зрештою одержала всебічне підтвердження і на сьогодні вже не ставиться під сумнів. Звісно, що наразі відомі численні інфекційні агенти, які не містять білків чи нуклеїнових кислот (віроїди, вірусоїди, пріони), однак вони не розглядаються як віруси. Тож, вірним є наступне «рівняння»:

$$\text{Вірус} = \text{білок} + \text{нуклеїнова кислота}.$$

Слід, однак, зауважити, що, всупереч законам математики, обернути це «рівняння» неможливо: не кожне поєднання білків з нуклеїновими кислотами є вірусом.

Окремо варто згадати і виняток зі вказаного правила: безкапсидні віруси родини *Narnaviridae*, які складаються лише з нуклеїнової кислоти (РНК) та не містять білків. Відмінності цих об'єктів від віроїдів пояснюються нижче.

**Чи є віруси живими?** Дискусія про те, чи можна вважати віруси живими, не вщухає і досі. І пов'язано це не з тим, що ми недостатньо повно розуміємо природу вірусів, а з тим, що саме поняття життя не має чітких меж.

Почнемо з поняття **живого** як властивості, притаманної певним матеріальним об'єктам. Традиційні спроби визначити цю властивість як комплекс конкретних біологічних функцій (розмноження, ріст, розвиток, обмін речовин, гомеостаз, адаптації тощо) варто визнати невдалими. Легко знайти приклади організмів, що не мають тієї чи іншої ознаки, хоча й розглядаються біологами як живі. Наприклад, спори у стані анабіозу фактично позбавлені обміну речовин, бактерії майже не демонструють індивідуального розвитку, а робочі особини еусоціальних комах, личинки, ювенільні та сенільні індивіди багатьох тварин не здатні до розмноження.

У 1950–1960-і рр. стало зрозуміло, що існування життя забезпечується універсальними молекулярними механізмами, насамперед реплікацією, транскрипцією і трансляцією. Усі інші ознаки є лише опосередкованими наслідками вказаних процесів, наприклад, розмноження є результатом реплікації, а адаптація до змінних умов – наслідком контролю транскрипції. Таким чином, живе можна визначити як *систему, у якій відбувається реплікація, транскрипція і трансляція*. Однак визначення через терміни, що описують складні багатокомпонентні процеси, є недостатньо універсальним; воно, вочевидь, може виявитися непридатним до позаземного життя. Зважаючи на це, з 1990-х рр. спостерігається тенденція до визначення живого через максимально прості і загальні терміни, сенс яких зрозумілий поза біологічним контекстом. Назвемо декілька найбільш популярних визначень **живої системи**:

- це самопідтримувана хімічна система, здатна до Дарвіновської еволюції (Дж. Джойс, 1995). Це визначення офіційно використовується НАСА для розробки принципів пошуку позаземного життя.

- це система автономних агентів, здатних до самовідтворення та здійснення термодинамічних циклів (С. Кауфманн, 2004).

- це відкрита система, здатна використовувати градієнти концентрації речовин з метою утворення неточних копій самої себе (Г. Ламмер та ін., 2009).

- це термодинамічна система з організованою молекулярною структурою, здатна самовідтворюватись і змінюватись з метою самозбереження (Д. Люттермозер, 2012).

У наведених визначеннях багато спільного. Усі вони акцентують увагу на декількох фундаментальних властивостях живого.

1. *Самовідтворення, або самокопіювання.* Навіть у межах особини, не здатної до розмноження, постійно відбувається поділ та оновлення клітин. Немає жодного прикладу системи, принципово нездатної до створення власних копій, але водночас зарахованої науковцями до живих об'єктів.

2. *Наявність помилок у процесі самовідтворення та здатність успадковувати ці помилки.* Життя не є точним копіюванням певної структури. В усіх відомих випадках воно еволюціонує за дарвінівським принципом, згадуваним у визначенні Джойса. Сутність цього принципу полягає у тому, що відтворення живих систем супроводжується їхньою *варіабельністю* (мінливістю), тобто створенням варіантів, які відрізняються один від одного індивідуальними «помилками» – *мутаціями*. Ця варіабельність далі виступає як субстрат для *природного добору*, тобто вибіркового виживання і подальшого відтворення найбільш прийнятного з варіантів.

3. *Засвоєння енергії у формі термодинамічного циклу*, тобто перетворення енергії у роботу. Важливим, хоча і не єдиним джерелом енергії у живих системах є згадані у визначенні Ламера градієнти, тобто різниці у концентрації певних речовин між двома ділянками всередині живої системи, або на межі між нею та навколишнім середовищем.

4. *Наявність та підтримання певної молекулярної структури.* Саме специфічні структури, утворені розташованими певним чином молекулами, здійснюють самокопіювання та перетворення енергії. Ці структури постійно змінюються у часі (наприклад, у процесі онтогенезу), але водночас постійно відтворюються у циклах розвитку.

Таким чином, об'єкт або систему можна вважати *живими* (або *біологічними* – у даному випадку це синоніми), якщо вони здатні до неточного самокопіювання певної молекулярної структури та самопідтримання шляхом використання енергії. З цього випливає і визначення самого життя як *процесу* або *властивості*, наприклад таке: **ЖИТТЯ** – *це активне, енерговитратне підтримання та відтворення специфічної структури* (Б.М. Медніков, 1982). «Активне підтримання та відтворення» у цьому визначенні відповідає «самопідтриманню та самовідтворенню» з вищенаведених визначень живого. Додавши здатність до дарвінівської еволюції, ми одержимо розширений варіант цього визначення: *життя – це енерговитратне самопідтримання та самокопіювання специфічної структури, що супроводжується виникненням та вибіркоvim відтворенням помилок.*

Кожна система, що відповідає вищеперерахованому переліку базових ознак життя, може впевнено вважатися живою. Але чи можна скоротити перелік обов'язкових ознак життя до ще меншої кількості ознак, або навіть до однієї-єдиної ознаки? Якщо так, то такою ознакою може бути лише самовідтворення. Причина цього напрочуд проста: лише у процесі самовідтворення відбувається еволюція, яка є єдиним відомим нам природним джерелом виникнення специфічних структур, здатних до засвоєння енергії та самопідтримання. Без самовідтворення живі структури просто не мають шансів на виникнення, що принципово відрізняє їх, скажімо, від об'єктів техносфери чи мистецтва, які часто бувають унікальними. Спонтанне ж утворення одиначної живої системи, на кшталт розумної планети Солярис з роману С. Лема, здається неможливим, бо така система

не має предків, від яких вона могла б успадкувати свої специфічні риси. Тож, гранично редуковане визначення життя буде таким: *життя – це самовідтворення*.

Втім, говорячи про самовідтворення, варто замислитись, чи кожний варіант цього процесу дійсно характеризує лише живі об'єкти. Наприклад, клітини самовідтворюються шляхом *матричного синтезу*, тобто збирання біополімерів з «неживих» мономерів, послідовність яких визначається відповідною послідовністю мономерів молекули-зразка. Але у природі можливі і значно простіші варіанти самовідтворення. Наприклад, *пріони*, інфекційні білки, самовідтворюються шляхом перебудовувати нормальних білків клітини на подібні до себе білки (які, власне, і називаються пріонами). Підчас такого перетворення змінюється лише просторова організація білкової молекули, але не її структура. Тож пріон не створює білок з інших речовин, а значить, фактично, не створює і себе самого. У цьому випадку йдеться про звичайну ланцюгову реакцію, у якій продукт попередньої реакції стає складником наступної. Приблизно так «створюють собі подібних» навіть елементарні частки, що здійснюють ланцюгову реакцію ядерного розпаду. Вважати їх живими ми, звичайно, не будемо. Тож мінімально необхідною властивістю життя ми будемо вважати лише таке самовідтворення, яке здійснюється шляхом побудови нових, раніше відсутніх молекулярних структур. Єдиним відомим нам прикладом такого самовідтворення є *реплікація нуклеїнових кислот*. Таким чином, у вкрай спрощеному вигляді, *життя – це реплікація*, тобто утворення молекул з простіших складових шляхом матричного синтезу, а *жива система – це система, здатна до реплікації*.

Життя зазвичай реалізується у складі **організму** – *дискретної структури, яка самостійно проявляє властивості живого*. Однак не кожна жива система може вважатися організмом. Наприклад, окремі органи людського тіла є живими системами. Але кістка не розмножується з утворенням інших кісток, а печінка – з утворенням інших печінок, тож організмами вони, звісно, вважатися не можуть. Звичайно, з кістки можна виділити клітини, з яких далі можна буде створити новий організм з новими кістками. Але для такого самовідтворення завжди буде необхідна фаза цілого організму.

Іншою важливою ознакою організму є дискретність, тобто чітка відокремленість від інших подібних об'єктів. Скажімо, у рослин, що розмножуються кореневищами, кожен окремий пагін потенційно здатний до проявлення усіх властивостей живого. Однак доти, поки він анатомічно і фізіологічно пов'язаний з іншими подібними пагонами, вважати його окремим організмом недоцільно.

На межі між організмом і не-організмом стоять окремі клітини багатоклітинних істот. З одного боку, вони здатні до енерговитратого самопідтримання та самовідтворення самих себе. З іншого, ця здатність проявляється лише в умовах цілого організму або штучних поживних середовищах, що імітують ці умови.



Така «несамостійність» окремих клітин, їхній нерозривний зв'язок з собою подібними, порушує наведене вище визначення організму, хоча і не суперечить визначенню життя як такого.

Цікавим прикладом проміжного стану між організмом і не-організмом є симбіотичні органели: хлоропласти і мітохондрії. У минулому вони були повноцінними організмами і навіть сьогодні здатні не лише відтворювати себе шляхом поділу, але й забезпечувати енергією і себе, і усю клітину. Складність, однак, полягає у тому, що частина генів, необхідних для функціонування цих органел, перенесені до ядра, тож хлоропласт і мітохондрія принципово не здатні до самовідтворення поза межами клітини. Це відрізняє їх від внутрішньоклітинних паразитів (бактеріальних та еукаріотичних), яких теоретично можна культивувати поза клітинами хазяїна за умови надання їм усіх необхідних поживних речовин. Крайнім випадком інтеграції симбіотичних органел до клітини є редуковані мітохондрії – *мітосоми*, які повністю позбавлені власної ДНК і відтворюються завдяки своїм генам, перенесеним у ядро. Мітосоми вже точно не можуть вважатись організмами: їхня дискретність є ілюзорною, бо не враховує гени, розташовані поза цими органелами.

Простіші внутрішньоклітинні системи (рибосоми, АТФ-соми, мікротрубочки) тим більше не є організмами. Але чи можна вважати їх живими? Деяким з них властиві окремі ознаки живого: наприклад, рибосоми здійснюють термодинамічні цикли, а мікротрубочки виникають шляхом самозбирання. Однак жодна з цих систем не здійснює самовідтворення і тем більше не має перерахованих вище чотирьох властивостей життя. Таким чином, відповідність одному або деяким з вищенаведених ознак життя, окрім ознаки самовідтворення, не дозволяє зарахувати об'єкт до живих систем.

Повернемось до вірусів. Чи відповідають віруси вказаним ознакам живих організмів та живих систем взагалі? На перше питання можна впевнено відповісти «ні». Вірус не є організмом, оскільки властивості життя він ніколи не проявляє у формі дискретної системи з певними кордонами. Вірусна частка є пасивною структурою, що сама по собі не проявляє біологічних властивостей, хоча і утворюється у живих системах (її можна було б навіть вважати «мертвою» структурою, та зазвичай ми називаємо мертвими колишні живі системи, що вже не здатні повернутися до життя). Біологічні процеси вірус здійснює лише у клітині, де зазвичай він не має ані постійної локалізації (за винятком так званих «вірусних фабрик»), ані чіткої межі, яка б відділяла його від інших компонентів клітини. Так, активна ДНК ретровірусу, вбудована у хромосому клітини, не має жодних фізичних кордонів, які б відділяли її від власної ДНК хазяїна. Тож віруси не можна вважати організмами. Але чи можемо ми розглядати їх як живі (біологічні) системи? Значною мірою так, адже вони і розмножуються, і еволюціонують, і використовують енергію у формі «чужих» молекул АТФ, і мають певну, чітко

визначену структуру хоча б на стадії вільної вірусної частки. У той же час очевидно, що віруси не є *активними* системами, тож для них значною мірою не прийнятні поняття *само-відтворення* і тим більш *само-підтримання*. Обидва ці процеси в усіх відомих нам живих системах забезпечуються білками, а вірусні білки створюються клітинними рибосомами. Тож незрозуміло, чи то віруси відтворюються у клітині, чи радше клітина відтворює віруси.

Таким чином, серед чотирьох ознак життя, перерахованих вище, віруси впевнено відповідають лише одній – здатності до реплікації. Усі системи, які демонструють подібну здатність, прийнято називати **реплікаторами**. Як ми вже згадували, єдині відомі нам реплікатори – це *нуклеїнові кислоти*. В сучасних умовах вони функціонують лише у межах живих клітин. Однак у минулому це, вочевидь, було не так: згідно сучасних уявлень, виникнення нуклеїнових кислот передувало появі клітин. Навіть зараз, в умовах *in vitro*, деякі нуклеїнові кислоти проявляють здатність до самовідтворення. Так, одноланцюгова ДНК може перетворитися у дволанцюгову шляхом приєднання вільних нуклеотидів *in vitro*, без жодної ферментативної підтримки. А *рибозими* (каталітичні РНК) не лише здатні синтезувати неточні копії самих себе з вільних нуклеотидів, але і здійснюють вражаюче інтенсивну еволюцію шляхом природного добору прямо у «пробірці». Дискретність рибозимів не викликає жодних сумнівів, а це наближує їх до організмів. Звичайно, можна звернути увагу на те, що жоден «вільний» молекулярний реплікатор не здатен забезпечити себе будівельним матеріалом та енергією для самовідтворення. Але чи є це принциповим? Навіть серед еукаріотів відомі численні паразити, не здатні виживати поза межами тіла хазяїна, а деякі – і поза його клітинами. У деяких бактерій (наприклад, хламідій) відсутня навіть здатність до енергетичного метаболізму, тож вони використовують лише ту енергію, яку накопичує хазяїн. Вочевидь, це не робить їх у наших очах неживими – хоча б тому, що визначення життя включає лише сам факт витрачання енергії, але не здатність цю енергію генерувати.

Тим не менше, відмінність вільних реплікаторів від молекул, що працюють у живій клітині, існує, просто вона полягає в іншому. Нуклеїнові кислоти здатні нести *інформацію*. І сутність цієї інформації є дуже різною. Французький вірусолог П. Фортє запропонував поділити усі реплікатори на дві групи.

1. *Рибосомо-кодуючі* – реплікатори, що містять інформацію про рибосоми – молекулярні машини, здатні синтезувати білки. Серед відомих нам біологічних систем лише ця група реплікаторів здатна до повної автономності, що підводить її до поступової індивідуалізації і подальшого формування живого організму, особини, індивіду. Саме до рибосомо-кодуючих реплікаторів належать *клітини* – єдині відомі нам системи, що мають усі без винятку ознаки життя.

2. *Капсид-кодуючі* – реплікатори, що містять інформацію про білкову оболонку (капсид), яка захищає нуклеїнову кислоту. Вони не містять даних про при-

строї для збирання цієї оболонки – рибосоми, тож принципово залежать від рибосом-кодуючих реплікаторів і не здатні в сучасних умовах функціонувати поза ними. Саме до таких систем належать віруси. Щоправда, у деяких вірусів (Narnaviridae) капсид повністю відсутній, і їхній РНК-геном кодує лише фермент, необхідний для власного самовідтворення. Близькими до цих безкапсидних вірусів є *ретротранспозони* (*ретропозони*) – мобільні генетичні елементи, здатні кодувати білки, необхідні для їхнього власного самовідтворення у клітині. Безкапсидні віруси і ретротранспозони можна було б назвати «фермент-кодуючими» або «білок-кодуючими» реплікаторами. Втім, такий термін не виглядає вдалим, оскільки рибосомо-кодуючі реплікатори теж кодують білки.

До переліку, створеного Фортє, ми додамо ще одну категорію реплікаторів.

3. *Некодуючі* – реплікатори, що не кодують жодних білків. До таких систем належать віроїди, самокопіюючі рибозими, автосплайсингові інтрони – тобто системи, що відтворюються або з зовнішньою білковою підтримкою, або без неї, але самі не містять жодної інформації про білок або білок-синтезуючий апарат.

Таким чином, віруси можна виначити як **капсид-кодуючі реплікатори**, або, точніше, **реплікатори, які кодують білки, але не кодують рибосоми**. Це, певною мірою, дозволяє зняти питання про їхню належність до живого світу: віруси живі у тій мірі, у якій здатність до самовідтворення тотожна поняттю життя. Як ми з'ясували вище, самовідтворення – найважливіша і найсвоєрідніша, але все ж таки не єдина ознака живого. Тож вважати віруси живими або ні – врешті-решт справа смаку, вірної відповіді на це питання не існує. Іронізуючи над цією термінологічною проблемою, вірусологи створили ряд жартівливих визначень вірусів, наприклад: *вірус – це шматочок нуклеїнової кислоти, оточений поганими новинами* (з Нобелівської лекції сера Пітера Медавара, 1960 р.) або навіть *вірус – це вірус* (Нобелівський лауреат А. Львов, 1965 р.).

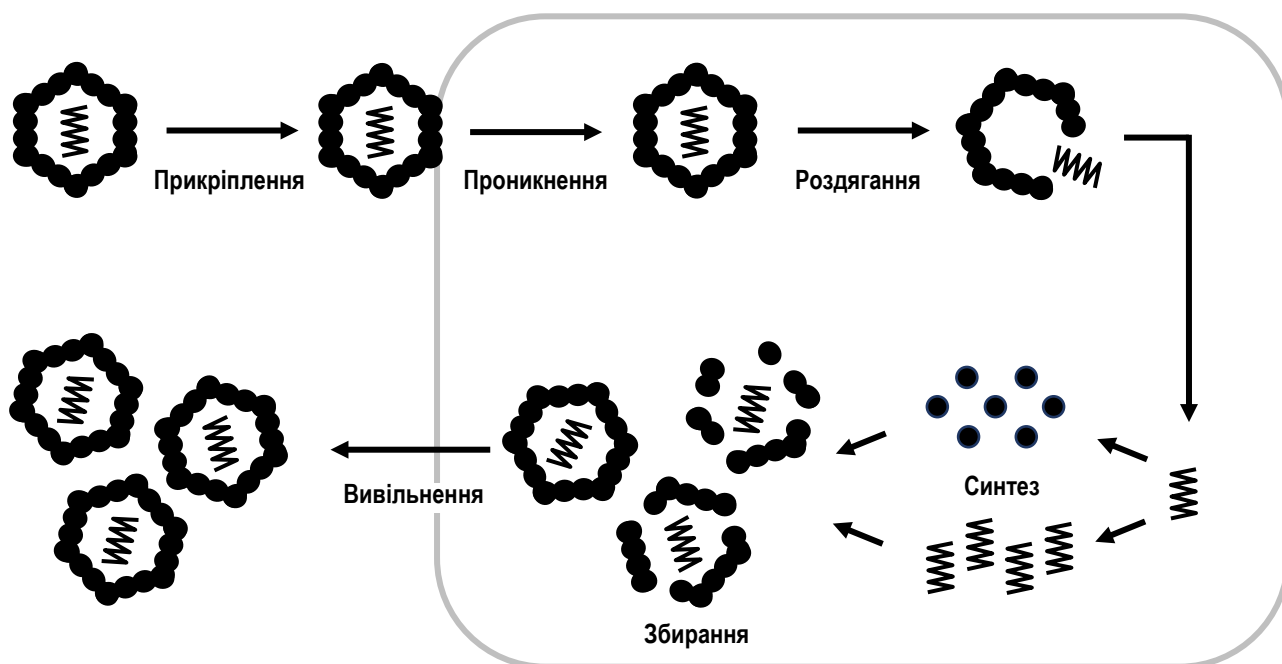
Підсумовуючи вищесказане, підкреслимо, що принциповою відмінністю вірусів від клітинних систем є *спосіб* самовідтворення. Нові клітини, завдяки власним рибосомам, завжди виникають безпосередньо з передіснуючих клітин, але нові вірусні частки ніколи не утворюються безпосередньо з передіснуючих часток. Натомість, вони збираються з компонентів, які синтезуються окремо один від одного всередині клітини хазяїна. У цьому сенсі віруси нагадують вищезгаданий приклад з печінкою, яка не здатна відтворювати нові печінки, минаючи стадію цілого організму. Вірус так само невід'ємний від клітини, як печінка від тіла тварини, однак суттєво відрізняється від останньої своєю *інфекційною здатністю*, тобто властивістю передаватися від однієї клітини до іншої, змушуючи кожен з клітин відтворювати себе. Підкреслюючи цю особливість, нобелівський лауреат Дж. Вотсон визначив віруси як *мобільні генетичні елементи, одягнені в захисну оболонку і здатні переходити з однієї клітини до іншої*.

**Віруси як сукупність фаз циклу репродукції.** Як і будь-яка біологічна система, віруси є змінними у часі і мають певний *цикл репродукції*, або *життєвий цикл* (останнє поняття у випадку для них вживати небажано). Фактично, поняття «вірус» не може бути прив'язане до однієї окремої фази розвитку, наприклад вільної вірусної частки. Звичайно, поняття «метелик» теж включає і яйце, і гусінь, і лялечку, однак у випадку тварин акцент на дорослу особину (імаго) є певною мірою виправданим: саме дорослі особини зазвичай мають найскладнішу будову і поведінку, здатні до розмноження тощо. У життєвому циклі вірусу такого «апогею» немає. Тож розуміння сутності вірусів невід'ємне від розуміння їхнього циклу репродукції. У цьому розділі ми розглянемо його максимально коротко (Мал. 1.6).

Зазвичай опис циклу розвитку вірусів починають з **віріона**, або **вірусної частки**. Це – молекулярний комплекс, що складається з нуклеїнової кислоти та білків та/або ліпопротеїдів (білково-ліпідних комплексів). Він виконує функцію, яку у клітинних організмів здійснюють спори та цисти, тобто забезпечує переживання стресових умов навколишнього середовища та перенесення до нових біотопів (у даному випадку – клітин організму-хазяїна). Віріон є метаболічно пасивним і не виявляє жодних ознак живого. Однак увійшовши у контакт з мембраною клітини-хазяїна, він здійснює **прикріплення** до неї. Зазвичай прикріплення є специфічним: білок або білки вірусної частки зв'язуються з цільовими рецепторами на поверхні клітини. Таким чином, сама наявність таких рецепторів визначає вразливість клітини до певного вірусу.

Оскільки реплікація вірусу відбувається всередині живої клітини, після прикріплення до поверхні відбувається **проникнення** або **вхід** вірусу усередину клітини. Одразу після цього геном вірусу повинен стати доступним для компонентів клітини, які будуть здійснювати ініційовані ним процеси: синтез вірусних білків і нуклеїнових кислот. Це досягається шляхом втрати багатьох або всіх білків, які утворюють вірусну частку, в процесі **роздягання**, або **депротеїнізації**.

Після того, як вірусний геном виявиться доступним компонентам клітинної біохімічної машинерії, починається етап **синтезу** білків і нуклеїнових кислот вірусу, у т. ч. нових вірусних геномів і численних мРНК, на яких синтезуються вірусні білки. Як тільки кількість новоутворених білків і нуклеїнових кислот стає достатньою для створення нових вірусних часток, починається етап **збирання** віріонів. За результатами цього процесу цитоплазма клітини може бути цілком вито заповнена вірусними частками. Нарешті, готові віріони **вивільняються** з клітини і потрапляють у позаклітинний простір, де заражують нові клітини. В деяких випадках, до або після вивільнення віріонів може відбуватися їхнє **дозрівання**. Під час кожного циклу репродукції вірусні геноми можуть зазнавати мутаційних змін, які стають субстратом для природного добору. Це призводить до стрімкої еволюції вірусів.



Мал. 1.6. Узагальнена схема циклу репродукції вірусів.

**Головні ознаки вірусів.** Підсумовуючи вищезазначене, наведемо перелік найважливіших ознак і властивостей вірусів:

1. Віруси є внутрішньоклітинними облігатними інфекційними агентами, що не мають клітинної будови.
2. Поза живою клітиною вірус представлений вірусною часткою, що складається з однієї або декількох молекул нуклеїнової кислоти, поміщених в одну або декілька захисних оболонок з білка та/або ліпопротеїдну, або, зрідка, позбавлений будь-яких оболонок.
3. Репродукція вірусів відбувається тільки усередині відповідних клітин хазяїв.
4. Репродукція вірусів зводиться до синтезу численних копій їхніх білків і нуклеїнових кислот. Цей синтез цілковито залежить від активності біохімічних систем клітини хазяїна і як правило локалізується в ділянках, просто-риво не відокремлених від вмісту клітини.
5. Виникнення нових вірусних часток відбувається за допомогою самозбирання, іноді за певної участі клітини хазяїна, наново синтезованих молекул нуклеїнової кислоти і білків вірусу.

Після ознайомлення з цим розділом ви повинні:

- вміти обговорити причини, які спонукають вивчення вірусів
- знати історію відкриття вірусів
- пояснювати, що відрізняє і що поєднує віруси з живими організмами
- знати головні ознаки вірусів



### **Додаткове читання до розділу 1.**

1. Barlow C.C. From Gaia to selfish genes: Selected writings in the life sciences. Cambridge, MA: MIT Press, 1991. 273 P.
2. Boden M. A. Is metabolism necessary? // The British Journal for the Philosophy of Science. 1999. Vol. 50, N. 2. P. 231–248.
3. Cleland C.E. Life without definitions // Synthese. 2012. Vol. 185, N. 1. P. 125–144.
4. Cleland C.E., Chyba C.F. Defining 'life' // Orig. Life Evol. Biosph. 2002. Vol. 32, N. 4. P. 387–393.
5. Diéguez A. Life as a homeostatic property cluster // Biol. Theory. 2012. DOI: 10.1007/s13752-012-0052-4.
6. Machery E. Why I stopped worrying about the definition of life... and why you should as well // Synthese. 2012. Vol. 185, N. 1. P. 145–164.
7. Mayr E. This is biology: The science of the living world. Cambridge, MA: Belknap Press of Harvard University Press, 1997. 327 P.
8. Pennock R.T. Negotiating boundaries in the definition of life: Wittgensteinian and Darwinian insights on resolving conceptual border conflicts // Synthese. 2012. Vol. 185, N. 1. P. 5–20.
9. Van Regenmortel M.H., Mahy B.W. Emerging issues in virus taxonomy // Emerg. Infect. Dis. 2004. Vol. 10, N. 1. P. 8–13.

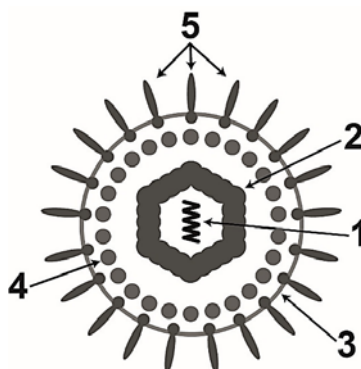
## Розділ 2. Вірусна частка

### 2.1. Структурні компоненти віріонів

Позаклітинна форма вірусу, або **віріон** – це структура, яка відповідальна за доставку вірусних генів з однієї клітини до іншої. Його функція полягає в захисті вірусного генома під час перебування поза клітиною та забезпеченні його потрапляння в наступну клітину, де він далі зможе реплікуватися і формувати нові віріони.

Обидві ці функції забезпечує білкова оболонка віріона – **капсид**, або **нуклеокапсид** (Мал. 2.1), Білки, що складають цю оболонку, виконують важливі функції:

- захищають нуклеїнові кислоти від руйнування нуклеазами і механічних розривів;
- містять елементи ідентифікації, які дозволяють вірусам розпізнавати придатну для зараження клітину (відсутні у вірусів рослин, які потрапляють в клітину через ушкодження або безпосереднім введенням);
- мають систему вивільнення генома, яка спрацьовує тільки у потрібному місці і в потрібний час.



**Мал. 2.1.** Схематичне зображення віріона. 1 - нуклеїнова кислота (геном вірусу); 2 - капсид (нуклеокапсид); 3 - ліпопротеїнова оболонка (суперкапсид, пеплос); 4 - білкові молекули матриксу; 5 - білкові вирости на оболонці (пепломери, «шипи»).

У складніше влаштованих вірусів білковий капсид може бути оточений ліпопротеїновою оболонкою, яка утворює **суперкапсид** або **пеплос** (дв.-грец. *πέπλος*, *пéплон*, лат. *perlum*, покрив). Ліпідний компонент цієї оболонки є фрагментом клітинної мембрани, захопленої вірусною часткою під час збирання. Варто зазначити, що віруси не мають генів, що забезпечували б їм синтез «власних» ліпідів, тож, утворюючи мембрани вони завжди вдаються до запозичення. Щодо білків суперкапсиду, то вони переважно мають вірусне походження і кодуються вірусними генами.

Білки, вбудовані у мембрану суперкапсиду можуть утворювати помітні в електронний мікроскоп білкові вирости – **пепломери**. Спочатку їх називали шипами, проте вони виявилися не гострими і не жорсткими, тож слово «шип» було відкинуте як таке що вводить в оману.

Простір між капсидом і ліпідною оболонкою може містити додаткові білкові молекули – **білки матриксу**.

## 2.2. Морфологія віріонів

Віріони мають дуже різноманітну форму, залежну від взаємного розташування білків капсиду, їхньої кількості та різноманіття, характеру зв'язків між білками та нуклеїновими кислотами, наявності суперкапсиду тощо. Виділяють наступні морфологічні типи віріонів (А – віруси архей; В – віруси бактерій; Е – віруси еукаріотів):

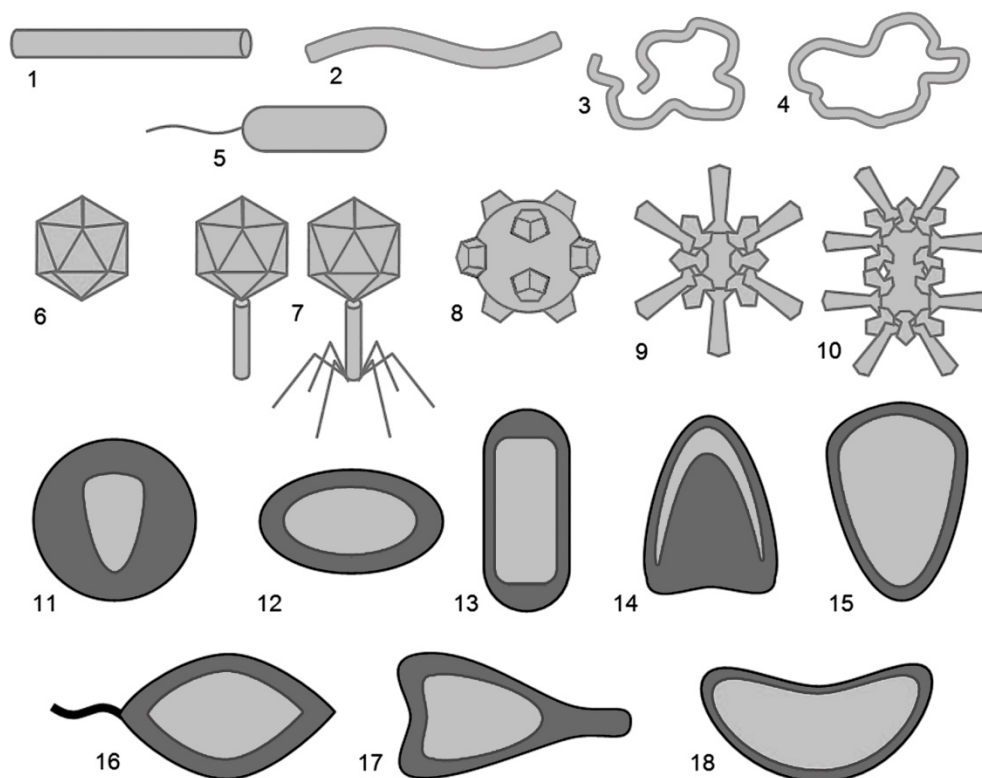
**I. Безмембранні** – віріон складається з нуклеїнової кислоти і капсиду.

1. Паличкоподібні (АЕ)
2. Ниткоподібні (АВЕ)
3. Звивисті (Е)
4. Кільчасті (Е)
5. Овоїдні хвостаті (Е)
6. Поліедричні (АВЕ)
7. Поліедричні з хвостами, або віруси типу «голівка-хвіст» (АВ)
8. Зірчасті, або поліедричні з трубчастими капсомерами (ВЕ)
9. Шипуваті (Е)
10. Подвійні шипуваті (Е)

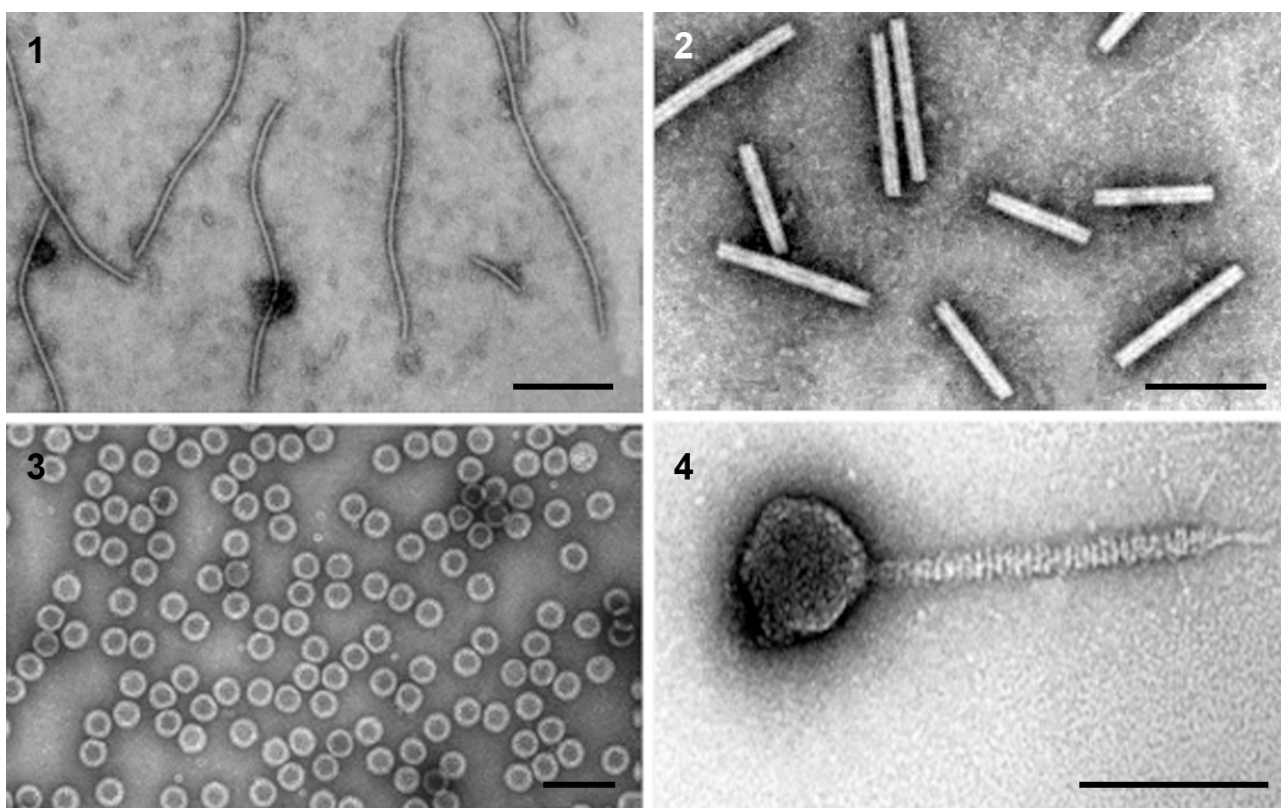
**II. Мембранні** – віріон складається з нуклеїнової кислоти, капсиду і суперкапсиду.

11. Сферичні (ВЕ)
12. Еліпсоїдні (Е)
13. Бацилоподібні (Е)
14. Кулеподібні (Е)
15. Краплеподібні (А)
16. Веретеноподібні (А)
17. Пляшкоподібні (А)
18. Бобоподібні (Е)

Морфологічні типи віріонів наведені на Мал. 2.2.



**Мал. 2.2.** *Форми віріонів у вірусів бактерій, архей та еукаріотів (ориг.).  
Номери відповідають типам, переліченим у тексті.*



**Мал. 2.3.** *Електронні мікрофотографії віріонів, що мають різну морфологію. А – ниткоподібні віріони вірусу «віспи» (шарки) слив; Б – паличкоподібні віріони вірусу тютюнової мозаїки; В – сферичні віріони РНК-вірусу лейшманій; Г – віріон бактеріофагу  $\lambda$ , що має морфологію «голівка-хвіст». Смужки на кожній мікрофотографії дорівнюють 100 нм. (за А.М.Q. King et al., 2012).*

### 2.3. Розмір віріонів

Віріони різних вірусів суттєво відрізняють за розмірами. Діаметр *найменших* віріонів складає близько 20 нм. *Найдовшими* є віріони деяких ниткоподібних вірусів рослин, що мають довжину до 2000 нм (2 мкм). Слід зазначити, що не зважаючи на значну довжину, вони мають у край малий діаметр і залишаються невидимими у світловому мікроскопі.

*Найбільшими за об'ємом* до недавнього часу вважалися еліпсоїдні віріони вірусу натуральної віспи, що мають довжину понад 350 нм. Однак у 2003 р. був відкритий мімівірус, який паразитує в амебі *Acanthamoeba polyphaga*. Його віріон має діаметр близько 400 нм (Мал. 2.4). Вперше цей величезний вірус побачили ще в 1993 р., але тоді він був ідентифікований як бактерія.

У 2010 р. був відкритий ще більший вірус, який теж паразитує на видах роду *Acanthamoeba* – *Megavirus chilensis*. Його було знайдено в зразку води, узятому неподалік від узбережжя Чилі. Діаметр віріона мегавірусу перевищує 440 нм (Мал. 2.5).

У 2013 р. були виявлені гігантські еліпсоїдні віруси з роду *Pandoravirus*: *P. salinus* і *P. dulcis*, що мають 1,2 мкм завдовжки і 0,5 мкм в діаметрі. Перший з цих двох видів має найбільший серед вірусів геном – 2,77 млн. пар основ. Так само, як мімівіруси і мегавіруси, пандоравіруси паразитують на *Acanthamoeba*, але *P. salinus* мешкає в Тихому океані біля узбережжя Чилі, а *P. dulcis* – у прісному водному ставку в Австралії (Мал. 2.6 А).

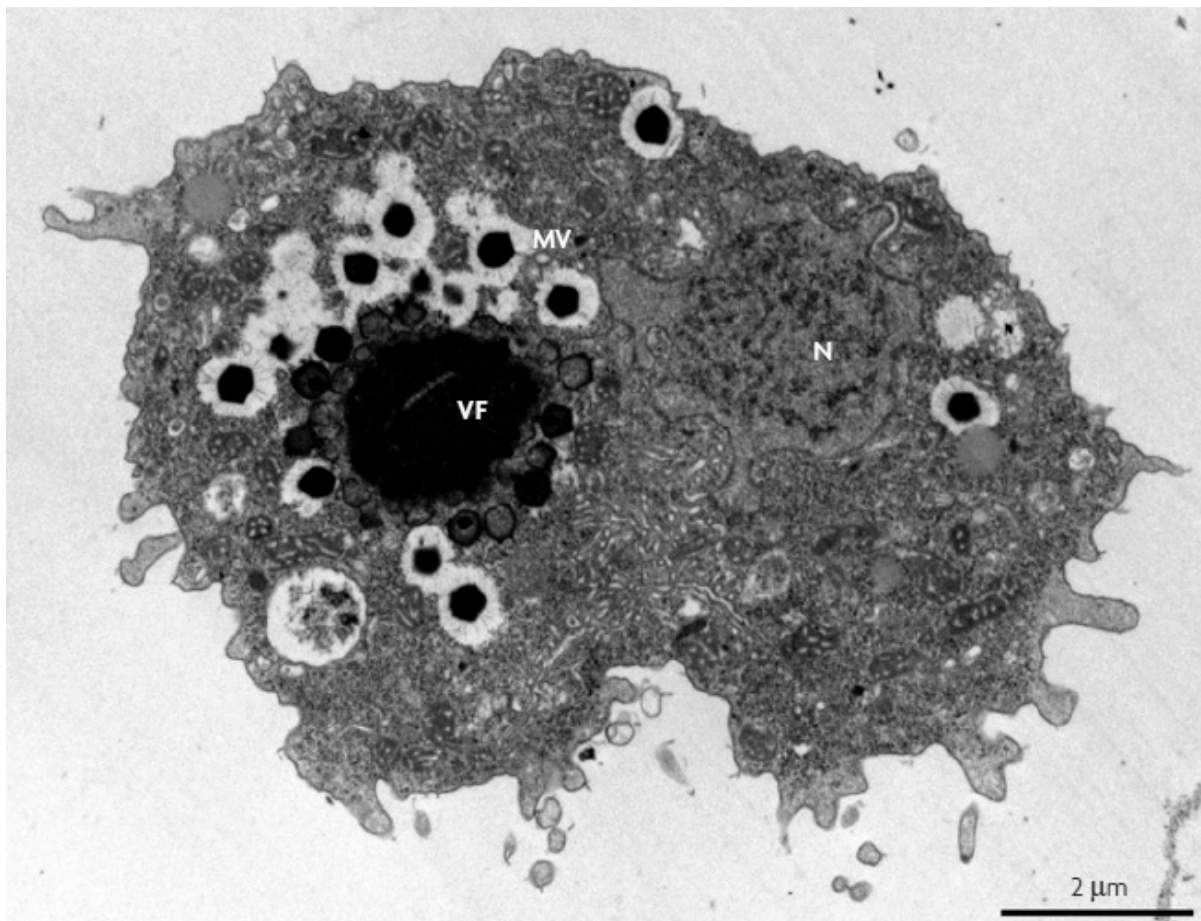
Нарешті, у 2014 р. був відкритий ще більший вірус, *Pithovirus*, віріон якого є 1,5 мкм завдовжки і 0,5 мкм в діаметрі (Мал. 2.6 Б). Проте геном пітовірусу, хоча й досить великий, є на порядок меншим, ніж у пандоравірусів.

Цікавою є історія відкриття пітовірусу. Він був отриманий зі зразка багаторічної мерзлоти з Сибіру віком приблизно 30 тис. років. Після розморожування вірус виявився життєздатним і зміг відтворюватися у клітинах амеб.

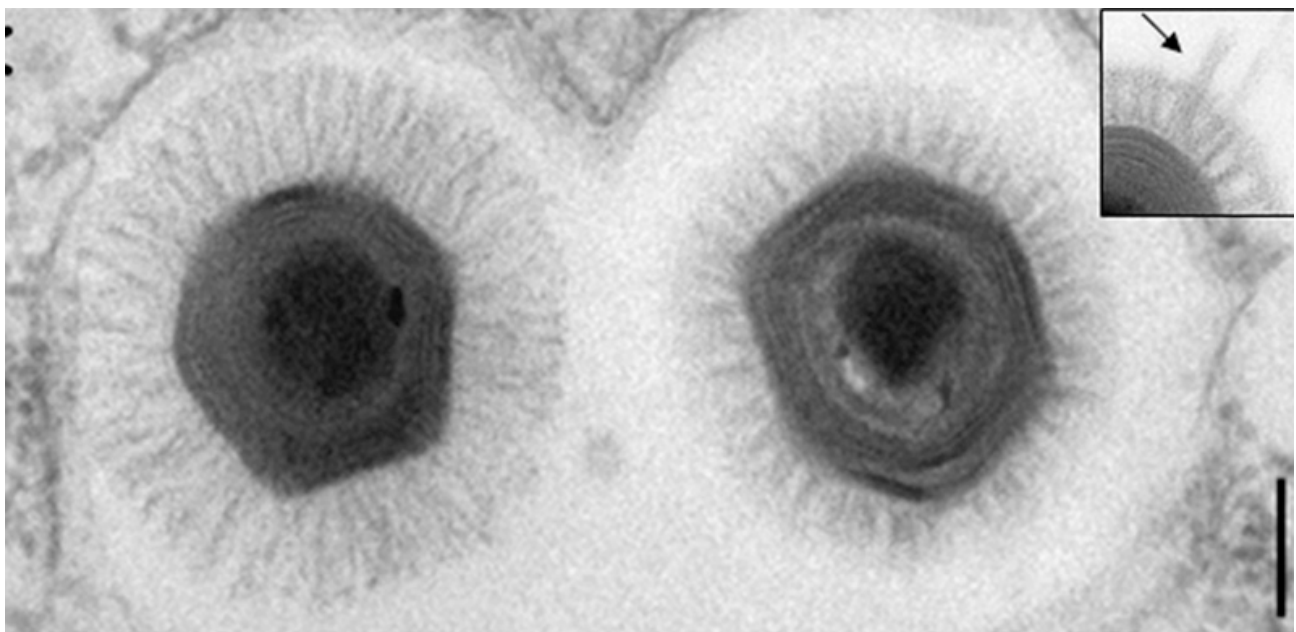
Таким чином, найбільші відомі віріони не лише помітні у світловий мікроскоп, а й перевищують за розмірами клітини деяких прокаріотів, що можуть сягати лише  $0.25 \times 0.1$  мкм (*Mycoplasma mycoides*).

### 2.4. Принципи структурної організації віріонів

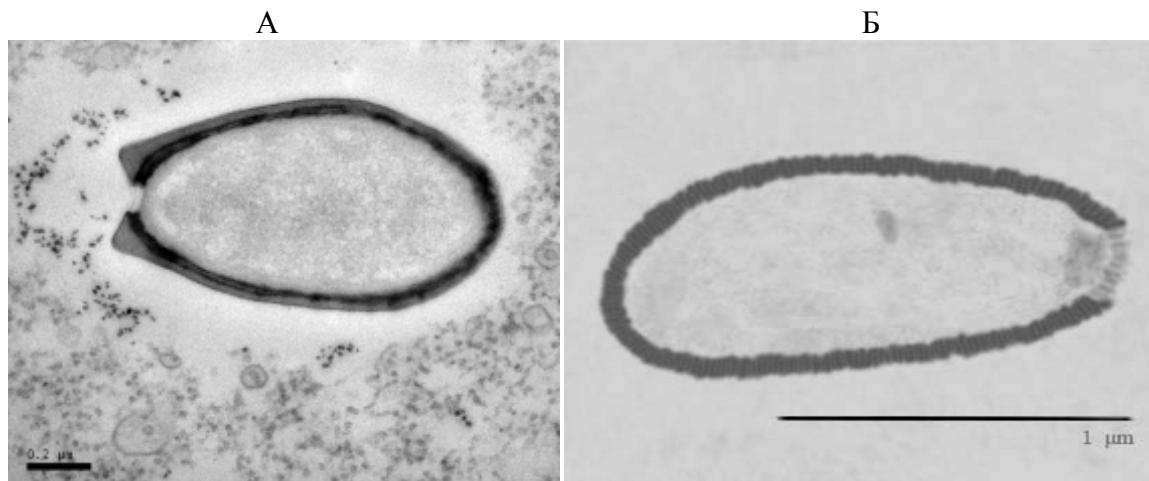
Структурна організація вірусних часток визначається вірус їхніми функціями. По-перше, вони мають захистити вірусний геном у агресивному позаклітинному середовищі. По-друге, віріони повинні легко і безпомилково збиратися під час виходу з клітини і повинні так само легко, але регульовано, розбиратися під час проникнення у наступну клітину.



**Мал. 2.4.** Амеба *Acanthamoeba polyphaga*, інфікована мімівірусом. N - ядро; VF – «вірусна фабрика» (місце синтезу макромолекул мімівірусу і збирання віріонів); MV - віріони мімівірусу. Трансмісивна електронна мікроскопія (за Raoult, Forterre, 2008).



**Мал. 2.5.** Віріони мімівірусу (ліворуч) і мегавірусу (праворуч) в одній вакуолі амеби (спільна інфекція). Стрілкою на врізанні показані пасма, які часто спостерігаються у зовнішньому волокнистому шарі віріона мегавірусів. Смужка дорівнює 200 нм. Трансмісивна електронна мікроскопія (за Arslan et al., 2011).



**Мал. 2.6.** Віріони *Pandoravirus* (А) і *Pithovirus* (Б).

Ще в 1957 р. Ф. Крик і Дж. Вотсон дійшли висновку, що капсиди вірусів мають бути побудовані з великої кількості ідентичних субодиниць білка. Вони звернули увагу, що геном вірусу занадто малий для того, щоб кодувати гігантську білкову молекулу, розміру якої буде достатньо, щоб укрити усю нуклеїнову кислоту. Значно економнішим є використання великої кількості однакових білкових субодиниць, амінокислотний склад яких визначається дуже коротким геном. Використання однакових субодиниць сприяє мінімізації помилок під час згортання вірусної частки: наявність невірно укладених або невикористаних субодиниць при цьому не має критичного впливу на функціональність вірусної частки.

Необхідною фізичною умовою стабільності будь-якої структури, у тому числі капсиду, є те, що вона має перебувати у стані мінімуму вільної енергії. Для капсиду ця умова забезпечується тоді, коли між субодиницями білка формується максимальна кількість нековалентних зв'язків. Оскільки білкові субодиниці мають неправильну форму, ця умова виконується лише за *симетричного* розташування білкових субодиниць. Водночас, будова субодиниць має дозволяти утворення лише обмеженої кількості подібних зв'язків, інакше білки б утворювали різноманітні за формою комплекси, не придатні до утворення вірусної частки, та й сам віріон мав би нестабільну структуру.

Існують лише два типи організації, за якої ідентичні асиметричні молекули можуть з'єднуватися одна з одною з утворенням симетричного капсиду: **спіральна** та **замкнена**, тож існує лише два відповідних типи структури білкових капсидів. Однак віріони деяких вірусів, приміром бактеріофагів з родини *Mycoviridae*, являють собою комбінації спіральних та замкнених структур.

У вірусних частках зі спіральною організацією білкові субодиниці зв'язуються з нуклеїновою кислотою, розташовуючись уздовж неї періодичним чином, так що вона згортається в спіраль. Найвідоміший приклад такої структури – вірус тютюнової мозаїки, ВТМ (Мал. 2.7).



В замкнених частках нуклеїнова кислота укладена таким чином, щоб не впливати на організацію оболонки. Зв'язки між капсидом і геномом при цьому є значно більш лабільними і різноманітними, аніж за спіральної організації. Прикладом вірусу із замкненою структурою оболонки є аденовірус (див Мал. 2.15)

## 2.5. Будова та симетрія капсидів

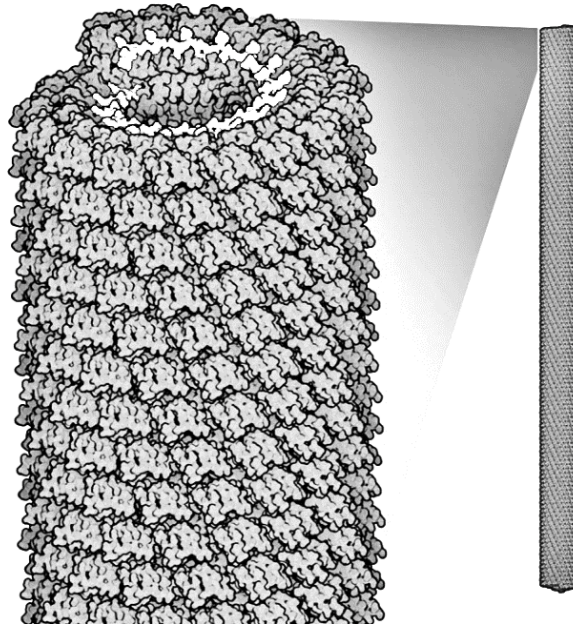
**Симетрія спіральних вірусних часток.** Одним з простих способів побудувати симетричну фігуру з несиметричних компонентів є розміщення їх по колу з утворенням диска. Далі такі диски можуть накладатися один на одного, створюючи порожнистий циліндр. Проте дослідження вірусних часток показали, що паличкоподібні віріони завжди утворюють структури не у вигляді дисків, а у вигляді спіралей. Цьому є очевидне пояснення – ниткоподібна молекула нуклеїнової кислоти не може рівномірно зв'язуватися з білком в структурі з дисків. За спіральної ж будови формується структура зв'язків, однакова для кожної субодиниці (Мал. 2.7), окрім крайніх на обох кінцях. Симетрію спіральних структур зручно описувати за допомогою двох параметрів: кількості одиниць на виток,  $u$ , та відстані між одиницями уздовж осі спіралі,  $P$ . Крок спіралі  $P$  дорівнює добутку  $p$  на  $u$ ;  $P = pu$ .

Віріони спіральної структури мають поворотну вісь симетрії, яка співпадає з віссю спіралі.

**Симетрія замкнених вірусних часток.** Замкнені оболонки віріонів являють собою чохли більш менш округлої форми, побудовані з окремих субодиниць, які специфічно взаємодіють між собою. У типовому випадку вони є правильними опуклими багатогранниками. Багатогранник називається опуклим, якщо усі його зовнішні кути є більшими за внутрішні, і правильним, якщо усі його грані являють собою рівні правильні багатокутники і у кожній його вершині сходиться однакова кількість ребр (Мал. 2.8).

З усіх можливих правильних опуклих багатогранників, для побудови віріону найбільш ефективним буде ікосаедр (точніше – багатогранник з ікосаедричною симетрією), оскільки ця форма дозволяє створити капсид певного об'єму з субодиниць найменшого розміру. Інакше кажучи, ікосаедр дозволяє побудувати віріон з мінімальною витратою генетичного матеріалу. З цієї причини серед усіх опуклих багатогранників лише ікосаедр використовується у природі для побудови ізометричних замкнених віріонів. Цю закономірність у 1962 р. встановили Д. Каспар і А. Клуг.





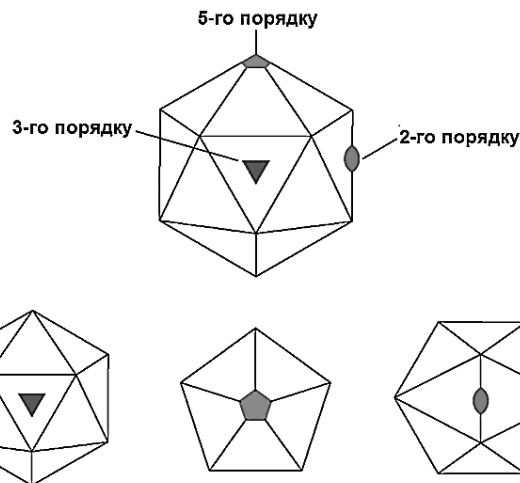
**Мал. 2.7.** Будова віріонів спірального та замкненого типів. Схематичне зображення фрагмента віріона вірусу тютюнової мозаїки. Капсид ВТМ розміром  $18 \times 300$  нм є спіраллю, що складається з 130 витків з кроком спіралі 2,3 нм. На виток спіралі припадає  $16\frac{1}{3}$  субодиниць. Спіраль сформована з 2130 ідентичних молекул білка (капсомерів), що містять по 158 амінокислотних залишків (за Н.М. Verman et al., 2000).



**Мал. 2.8.** Правильні опуклі багатогранники. Зліва направо: тетраедр, куб (гексаедр), октаедр, додекаедр, ікосаедр.

Ікосаедр (Мал. 2.9) має 20 ідентичних граней (кожна з яких є рівнобоким трикутником), 12 вершин, і має осі симетрії 5, 3 і 2 порядків. Порядок осі обертальної симетрії є числом, на яке слід розділити  $360^\circ$ , щоб визначити кут, під час повороту на який тіло переходить саме в себе. Так, для осі симетрії 5-го порядку цей кут дорівнює  $72^\circ$ , 3-го порядку –  $120^\circ$ , 2-го порядку –  $180^\circ$ .

Слід звернути увагу на те, що ікосаедричний тип симетрії не обов'язково означає, що віріон матиме саме форму ікосаедра. Навіть якщо об'єкт має сферичну (Мал. 2.10) або еліпсоїдну форму, розташування його складових може підпорядковуватись ікосаедричній симетрії. Тож відомо багато віріонів, які підпорядковуються ікосаедричній симетрії, але не мають форму ікосаедра.

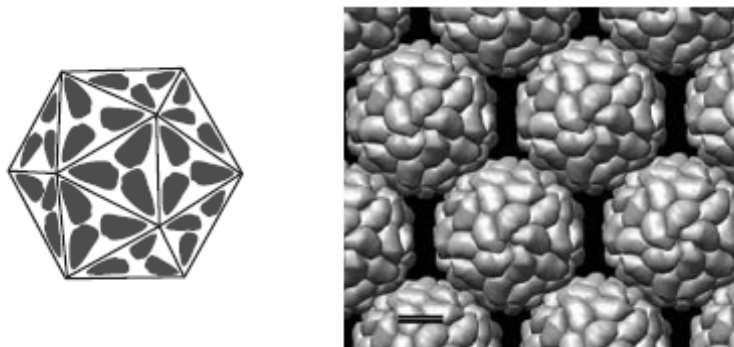


**Мал. 2.9.** Ікосаедрична симетрія. Показано положення осей симетрії правильного ікосаедра і вид ікосаедра з боку осей симетрії (за Carter & Saunders, 2007).



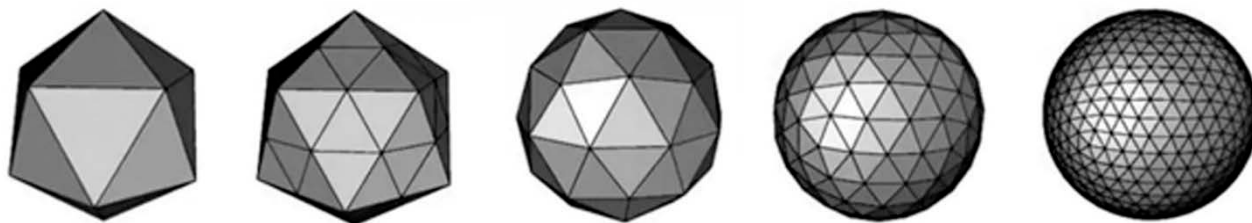
**Мал. 2.10.** Приклад об'єкту, що має симетрію ікосаедра, але не є ікосаедром.

Як вперше підраховали Дж. Вотсон і Ф. Крик, правильний ікосаедр можна побудувати мінімально з 60 ідентичних субодиниць, які однаковим чином взаємодіють одна з одною, тобто мають *еквівалентні* зв'язки. На кожній трикутній грані такого ікосаедра буде припадати три білкові молекули. Капсиди цілої низки дрібних вірусів дійсно мають подібну будову (Мал. 2.11).



**Мал. 2.2.** Ліворуч – схема розташування 60 молекул білка (показані заливкою), по три на кожну трикутну грань ікосаедра, з еквівалентними, тобто однаковими зв'язками для кожної молекули. Праворуч – реконструкція капсиду сателіта вірусу тютюнової мозаїки. Зверніть увагу, що в кожній вершині ікосаедра п'ять молекул білка сходяться разом і утворюють пентамерний кластер (за A.M.Q. King et al., 2012).

Проте у більшості вірусів молекула нуклеїнової кислоти занадто велика, щоб її можна було помістити в капсид з 60 білкових субодиниць. Яким чином цю проблему можна розв'язати? Просте збільшення розміру білкової субодиниці не призведе до успіху, оскільки білок більшого розміру вимагатиме для свого кодування більшої довжини вірусного генома. Ефективнішим рішенням є збільшення кількості білкових субодиниць, використовуваних для побудови капсиду. Проте ця кількість не може бути збільшена довільно. Д. Каспар і А. Круг показали, що кожен трикутний грань ікосаедра можна розділити на декілька рівнобоких трикутників меншого розміру, кожен з яких може бути утворений окремою білковою молекулою. Багатогранники, які утворюються у результаті, матимуть ікосаедричну симетрію, проте можуть і не бути істинними ікосаедрами. Іноді ці фігури називають *ікосадельтаедрами* (Мал. 2.12).



**Мал. 2.3.** Приклади правильних багатогранників, що мають ікосаедричну симетрію (ікосадельтаедрів). Істинними ікосаедрами є тільки перша і друга фігури.

Кількість трикутників на кожен грань ікосаедра називають тріангуляційним числом  $T$ . Чому воно може дорівнювати, тобто на скільки рівнобоких однакових трикутників можна розділити кожен трикутний поверхню ікосаедра? Відповідь дає наступна формула:

$$T = Pf^2$$

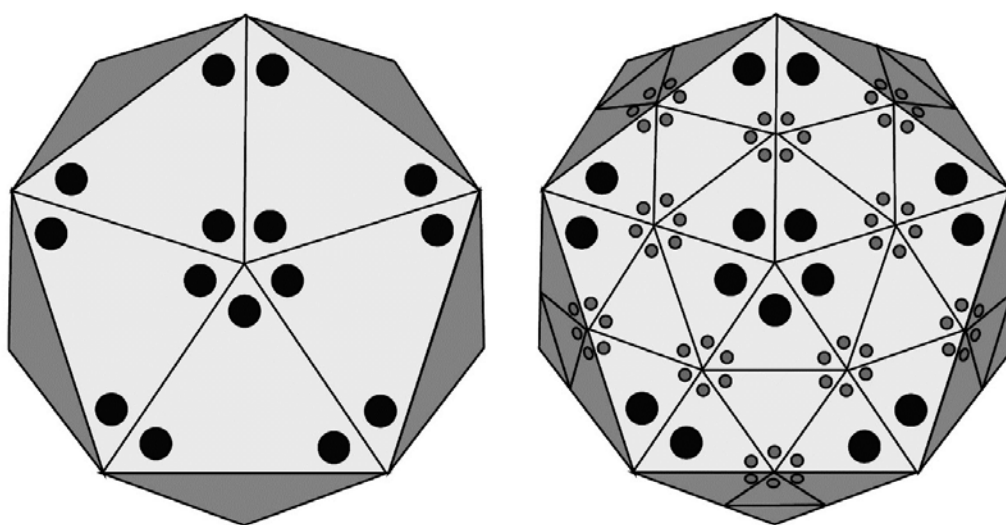
де  $T$  – тріангуляційне число, а  $P$  визначається виразом  $h^2 + hk + k^2$ . У цьому виразі  $h$  і  $k$  є натуральними числами, що не мають загального множника,  $f = 1, 2, 3, 4$  і так далі.

В усіх досліджених на сьогодні вірусів, значення  $P$  дорівнюють 1 ( $h = 1, k = 0$ ), 3 ( $h = 1, k = 1$ ) або 7 ( $h = 1, k = 2$ ). Таким чином,  $T$  може набувати значень 1, 3, 4, 7, 9, 12, 13, 16, 19, 21, 25, 27, 28 і так далі. При  $P = 1$  або 3, утворюються правильні ікосаедри. Загальна кількість субодиниць білка в капсиді дорівнює  $60T$  (Табл. 2.1).

**Таблиця 2.1.** Приклади геометричних параметрів віріонів деяких вірусів

$P$	$f$	$T = P f^2$	Кількість субодиноць ( $60T$ )	Приклад
1	1	1	60	Сателіт вірусу некрозу тютюну
3	1	3	180	Вірус кущистої карликовості томатів
1	2	4	240	Вірус Синдбіс
1	4	16	960	Герпесвіруси
1	5	25	1500	Аденовіруси

У міру збільшення кількості субодиноць, з яких побудований віріон, зв'язки між ними перестають бути еквівалентними. Наприклад, в простому випадку, при  $T=1$ , віріон побудований з 60 субодиноць. Вони розташовані по кутах кожної трикутної грані. Усі субодиноці у вершинах ікосаедра групуються в групи по п'ять – *пентамери*, і кожна субодиноця має абсолютно однотипні, еквівалентні зв'язки з сусідніми субодиноцями (див. Мал. 2.10). Проте при  $T=4$  віріон вже будуватиметься з 240 субодиноць, і деякі з них не торкатимуться вершин ікосаедра і групуватимуться в групи по шість – *гексамери*. Таким чином, зв'язки між субодиноцями, що знаходяться в різних частинах капсиду не будуть повністю еквівалентними (Мал. 2.13).



**Мал. 2.4.** Розташування  $60T$  ідентичних субодиноць на поверхні ікосаедра. Ліворуч випадок з  $T=1$ , 60 субодиноць розташовані у вершинах кожної трикутної грані. Усі субодиноці зв'язані еквівалентними зв'язками. У вершинах ікосаедра вони утворюють пентамери. Праворуч випадок з  $T=4$ . Кожна трикутна грань розділена на 4 однакових рівнобоких трикутника. 240 субодиноць розташовані у вершинах цих трикутників. Чорні крапки позначають ділянки, де з'єднуються субодиноці, що утворюють пентамери, сірі крапки – ділянки, де з'єднуються складові гексамерів.

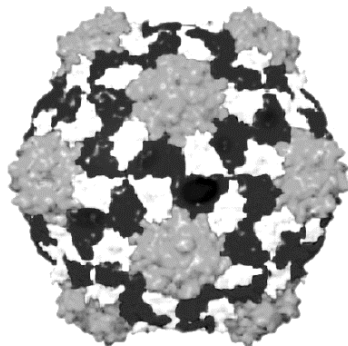
Чи можна забезпечити існування двох альтернативних типів зв'язування для однакових субодиноць? Так, якщо між субодиноцями в складних віріонах фор-

муються **квазіеквівалентні зв'язки**, існування яких було передбачене Д. Каспаром і А. Клугом. Нековалентні зв'язки, що формуються між білковими субодинамицями, здатні до певної пластичності. Завдяки цьому субодинамиці ніби «підлаштовуються» під конкретне положення в капсиді, і зрештою формують правильну ікосаедричну структуру з мінімумом вільної енергії. Здатність до квазіеквівалентності зумовлена тим, що у білках капсиду присутній невеликий сегмент довжиною 10–30 амінокислотних залишків, який залежно від свого мікрооточення утворює різну конформацію.

На електронних мікрофотографіях віріонів часто спостерігаються стійкі комплекси з п'яти або шести субодинамиць. З'єднання білків капсиду у такі групи називали **пентамерно-гексамерною кластеризацією**, а самі групи – **пентонами** і **гексонами**. Ймовірно, утворення цих комплексів сприяє збільшенню до максимуму кількості контактів між субодинамицями, що повинно виключати утворення між ними щілин. У ікосаедельтаедрів, що не є істинними ікосаедрами, віріон має 12 пентонів і  $10 \cdot (T-1)$  гексонів.

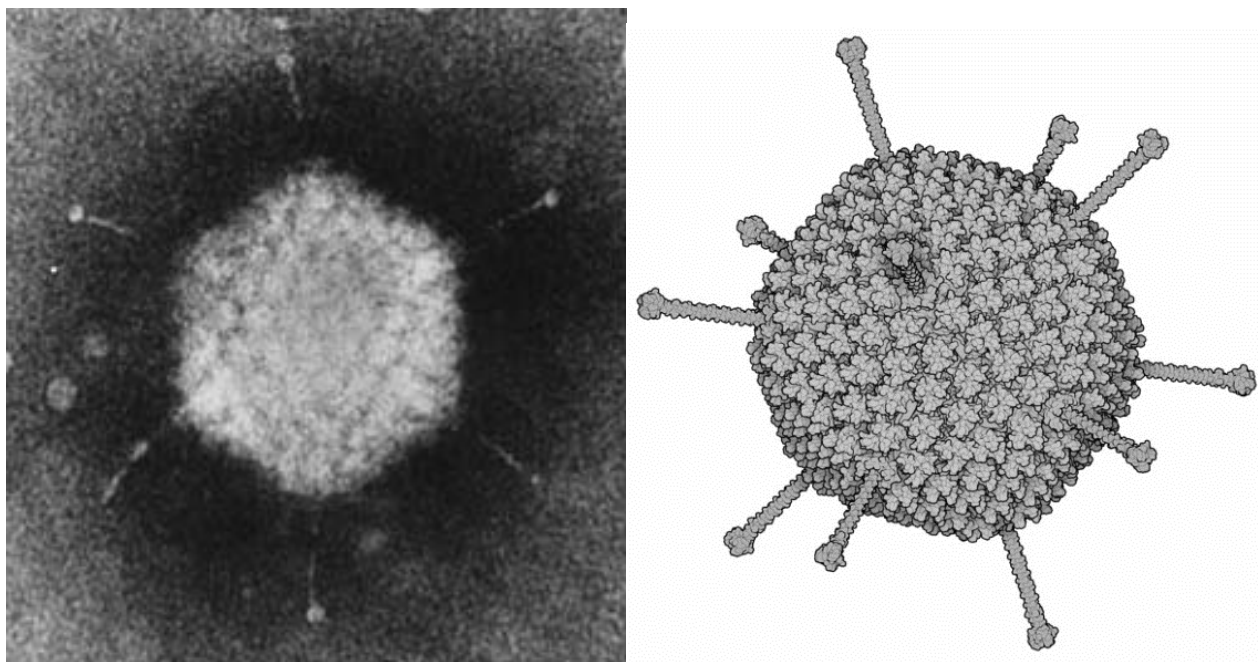
У багатьох віріонах саме пентаметри і гексамери, а не окремі білкові молекули, стають структурними одиницями будови капсиду – **капсомерами**. Часто саме ці, складні за будовою капсомери є видимими у електронному мікроскопі. Взагалі, морфологічна одиниця може вважатися капсомером, якщо білки, з яких вона складається, утворюють більш-менш міцний агрегат і залишаються разом в умовах м'якої дезінтеграції. Втім, у найпростіших вірусів капсомером є окрема білкова молекула.

Квазіеквівалентність – лише один зі способів створити ікосаедричний капсид із різною симетрією вершин. Альтернативним шляхом є утворення капсиду з декількох типів білка. Наприклад, капсид вірусу мозаїки вігні (*Vigna villosa*, род. Бобові) складається з білків двох типів, перший з яких формує пентамери, а другий – своєрідні гексамери, специфіка яких полягає у тому, що кожен два сегменти цього гексамера є субодинамицями однієї молекули. Таким чином, гексамер у цьому випадку утворюється не шістьма, а лише трьома молекулами (Мал. 2.14).



**Мал. 2.5.** Модель капсиду вірусу мозаїки вігні, що складається з двох типів молекул білка. Білок першого типу (показаний сірим кольором) формує 12 пентамерів на вершинах ікосаедра, тоді як молекули другого білка, що складаються з двох доменів (показані білим і чорним) формують 20 гексамерів на гранях. Кожен гексамер формується з шести субодинамиць, або трьох молекул.

Поверхня капсидів має дуже різноманітну топографію. Білкові молекули можуть утворювати западини, гребні, виступи тощо. Деякі віруси з ікосаедричними капсидами мають додаткові структури. Наприклад, віріони аденовірусів мають у кожній з 12 вершин ниткоподібні вирости (фібрили) (Мал. 2.14). Фібрили закріплені на пентаметрах, що складаються з п'яти поліпептидних ланцюгів. Грані ікосаедра утворені гексамерами. Разом капсид аденовірусів складається з 1500 субодиниць: 1440 з них розташовані в гексонах і 60 (тобто  $12 \cdot 5$ ) – в пентонах.

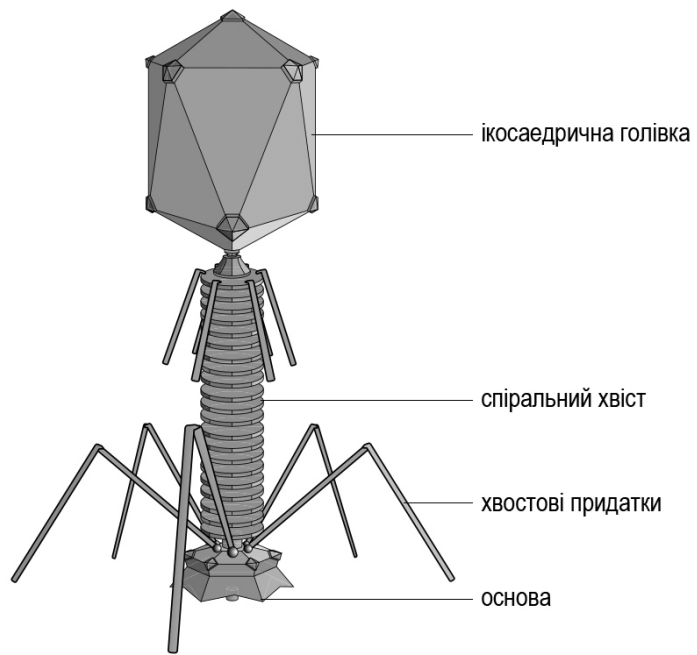
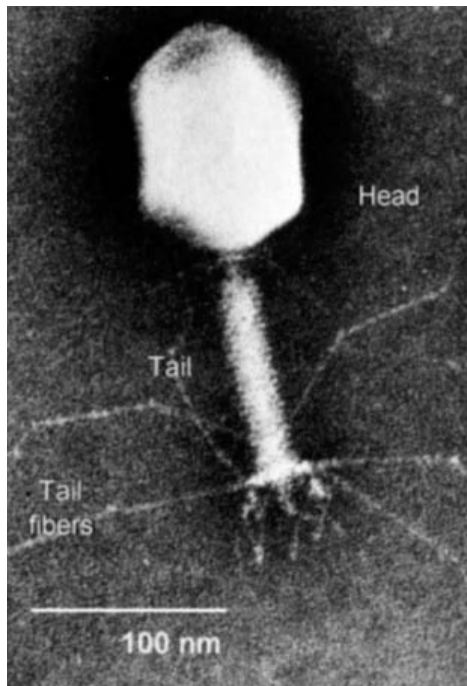


**Мал. 2.6.** Структура капсиду аденовірусів ( $T=25$ , 1500 субодиниць). Ліворуч електронна мікрофотографія віріона, праворуч модель капсиду, на якій показані групування капсомерів (240 гексамерів і 12 пентамерів) і фібрили на вершинах капсиду (за Н.М. Berman et al., 2000).

Існують віруси з ікосаедричними віріонами, структура яких залишається досить невідомою. Так, віруси роду *Levivirus*, ікосаедричні бактеріофаги з РНК-геномами, мають капсиди з  $T=3$ , тобто складаються зі 180 білкових субодиниць. Але до складу капсиду входить одна молекула додаткового білка, який забезпечує прикріплення віріонів до бактерій. Яким чином ця додаткова молекула вбудована у капсид, залишається невідомим.

**Віріони комбінованої будови.** У межах трьох родин бактеріофагів відома комбінована морфологія «голівка-хвіст», яка об'єднує принципи спіральної та ікосаедричної симетрії (Мал. 2.15): голівки, що містять нуклеїнову кислоту, мають ікосаедричну симетрію, а хвости – спіральну. В межах цієї морфології виділяють три варіації: короткий хвіст (родина *Podoviridae*), довгий хвіст, що не скорочується (родина *Siphoviridae*), і складний хвіст, що скорочується (родина *Myoviridae*).

Інші структури у складі віріона, на кшталт комірців і базальних пластинок, мають переважно променеву симетрію.



**Мал. 2.7.** Віріони, що мають морфологію голівка-хвіст.

*Ліворуч - електронна мікрофотографія бактеріофага, праворуч – модель будови віріону бактеріофага.*

Деякі віруси мають капсиди, які не відповідають розглянутим вище структурам, і правила, які направляють їхнє формування, залишаються незрозумілими. Наприклад, капсид ВІЛ має конусоподібну форму, а вірус віспи, окрім внутрішнього спірального капсиду, має розташовану поза ним білкову оболонку еліпсоїдної форми, укладену численними капсомерами. Закономірності морфогенезу віріонів цих вірусів наразі невідомі.

## 2.6. Будова ліпідних оболонок віріонів

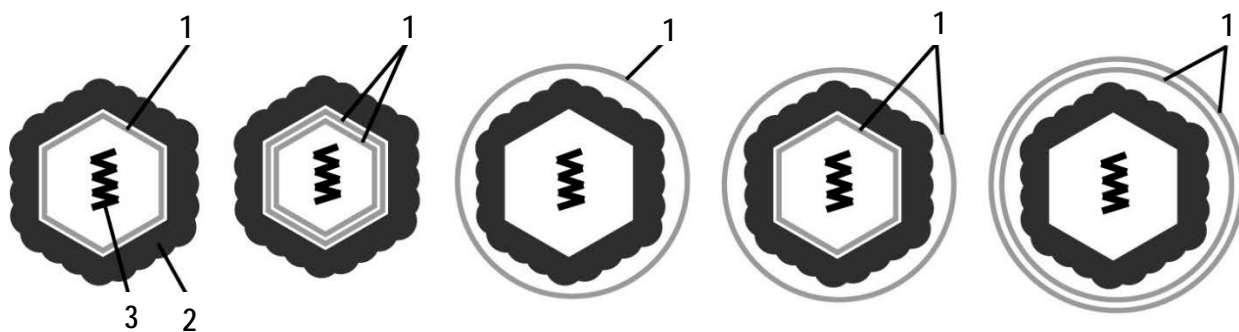
Ліпідні мембрани у більшості випадків знаходяться на поверхні віріонів, значно рідше – усередині капсиду. У першому випадку форма вірусної частки визначається саме ліпідною оболонкою, а також вбудованими у нею білками. Ліпідні оболонки можуть оточувати як спіральні, так і ікосаедричні капсиди. Варто зазначити, що оточені оболонкою віруси вражають переважно еукаріотів, позбавлених клітинної стінки (тварин та деяких протистів).

Оболонка віріона походить від мембрани клітини хазяїна і утворюється у процесі відбруньковування від мембрани хазяїна: плазмолемі, мембрани ендоплазматичного ретикулуму, апарату Гольджі або навіть зовнішньої чи внутрішньої мембрани ядерної оболонки. Перед включенням до віріону мембрана хазяїна зазнає глибоких модифікацій. Наприклад, оболонка віріона вірусу імунодефіциту

людини 1, яка походить від плазматичної мембрани клітини хазяїна, після включення у віріон містить більше холестерину і сфінгомієліну та менше фосфатидилхоліну і фосфатидилінозиту, ніж вихідна мембрана хазяїна.

Якщо вірус здатний реплікуватися у клітинах різних хазяїв, вибір хазяїна суттєво впливатиме на склад ліпідів оболонки віріона. Наприклад, віруси роду *Alphavirus* реплікуються як в клітинах ссавців, так і в клітинах комах. І коли вірус лісу Семлікі (збудник однойменної лихоманки) реплікується в клітинах нирки хом'яка, оболонка дочірніх віріонів містить приблизно в п'ять разів більше холестерину, ніж у того самого вірусу, який реплікується в клітинах комарів.

Ліпідні мембрани, розташовані під поверхнею капсиду, певною мірою повторюють його форму (Мал. 2.16). Формування таких мембран пов'язане з накопиченням білків капсиду на їхніх поверхнях (наприклад, у вірусів родини *Corticoviridae*). Цей механізм, однак, не може пояснити існування вірусів, які мають як внутрішню, так і зовнішню мембрани (деякі *Iridoviridae*) або віріонів, вкритих двома зовнішніми (*Poxviridae*) або внутрішніми (*Mimiviridae*) мембранами.



**Мал. 2.8.** Типи розташування ліпідних оболонок у складі віріонів.  
1 – ліпідна оболонка, 2 – білкова оболонка, 3 – нуклеїнова кислота.

З мембраною оболонки вірусів завжди асоційовані один або декілька типів вірусних білків. Найчастіше вони є інтегральними, тобто вбудовані у мембрану, мають складну мультимерну будову, тобто складаються з декількох субодиниць. Усі ці білки кодується вірусними геномами (виняток складають деякі білки *Retroviridae*). Тож під час формування суперкапсидів відбувається не лише включення до їхнього складу вірусних білків, а й витіснення білків клітини хазяїна.

## 2.7. Хімічний склад віріонів

**Нуклеїнові кислоти.** Клітини усіх живих організмів містять два види нуклеїнової кислоти – ДНК (дволанцюгова ДНК клітинного генома) і РНК (переважно одноланцюгові мРНК, тРНК, рРНК, численні типи малих регуляторних РНК). На відміну від клітин, віріони містять лише один вид нуклеїнової кислоти – ДНК або РНК, причому, незалежно від складу, вона виконує одну функцію: зберігає і реалізує спадкову інформацію. Приблизно 20% усіх вірусів мають ДНК-геном, 80% – РНК-геном. В сучасному світі зберігання генетичної інформації у вигляді



РНК є унікальною властивістю вірусів, але існують припущення, що предки клітинних організмів також могли мати РНК-геном.

Наявність одного виду нуклеїнової кислоти є характеристикою віріону, але не вірусу. У циклі реплікації ДНК-вірусу його геномна ДНК транскрибується з утворенням РНК. У свою чергу, низка вірусів, які містять РНК, мають в циклі репродукції стадію зворотної транскрипції і синтезують ДНК на матриці РНК.

Кожна молекула нуклеїнової кислоти вірусного генома є або одноланцюговою (ол, ss), або дволанцюговою (дл, ds); таким чином, вірусні геноми можна розділити на чотири типи: **длДНК**, **олДНК**, **длРНК** і **олРНК**. І якщо длДНК вірусів являє собою такий же тип спадкового матеріалу, як і в усіх живих організмів, то інші три типи генома є унікальними для вірусів. Цікаво відмітити, що більшість вірусів грибів мають в геномі длРНК, у більшості вірусів рослин геном представлений олРНК, а більшість бактеріофагів мають геноми у вигляді длДНК. Причина такого розподілу, можливо, пов'язана з різною історією виникнення вірусів у цих хазяїв.

Подальшу класифікацію нуклеїнових кислот вірусів можна здійснити на підставі того, чи є їх молекули лінійними, з вільними 5'- і 3'-кінцями, або кільцевими. У свою чергу, кільцеві молекули можуть одержувати свою форму або за рахунок ковалентного зв'язування, або за рахунок спаровування комплементарних основ на їхніх кінцях.

Розмір геномів вірусів варіює в надзвичайно широких межах. До найменших можна віднести геноми цирковірусів свиней (олДНК) і вірусу гепатиту D (олРНК), що мають довжину близько 1,7 тисяч нуклеотидів. Найбільші РНК-геноми виявлені у коронавірусів і складають близько 33 тисяч нуклеотидів олРНК. Найбільші ДНК-геноми відомі у пандоравірусів і досягають 2,5 млн. пар нуклеотидів длДНК.

Більшість вірусних геномів складаються з єдиної молекули нуклеїнової кислоти, але у деяких вірусів геноми складаються з двох або більше сегментів. Такі сегментовані геноми частіше трапляються у РНК-вмісних вірусів: більшість вірусів, що містять длРНК, мають сегментовані геноми.

Основною функцією вірусних геномів, звичайно, є кодування вірусних білків. Однак деякі з них також містять регуляторні послідовності, які забезпечують контроль експресії генів. Регуляторні ділянки одноланцюгових нуклеїнових кислот можуть утворювати вторинні структури типу шпильок або псевдовузлів, і навіть згортатися в третинні структури, важливі для реплікації вірусів.

Для деяких вірусів характерні модифікації кінців лінійних нуклеїнових кислот, наприклад їхнє зв'язування з молекулою білка або утворення кепа на 5'-кінці і поліаденілового хвоста на 3'-кінці РНК.

У складі капсиду нуклеїнові кислоти формують складні суперспіральні структури. Згортання генома для пакування в обмежений простір капсиду утруднює

ється взаємним відштовхуванням негативних електростатичних зарядів фосфатних груп. Віруси долають це утруднення шляхом пакування разом з геномом низки позитивно заряджених речовин ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ , поліамінів), які нейтралізують негативні заряди. Крім того, нуклеїнові кислоти вірусів можуть бути нековалентно пов'язані з білками, збагаченими позитивно зарядженими амінокислотними залишками. Деякі віруси з дволанцюговою ДНК мають подібні до гістонів позитивно заряджені білки, тісно пов'язані з ДНК. Геном вірусу поліоми захоплює гістони клітини хазяїна (H2A, H2B, H3 і H4), набуваючи завдяки ним хроматиноподібну суперспіральну структуру.

**Білки.** Кількість білків, що входять до складу віріона, залежить від об'єму вірусного генома. Так, віріон вірусу тютюнової мозаїки, що має невеликий геном, містить лише один вид молекул білка, – той, що формує його спіральний капсид. Віріони парвовірусів містять 2–4 типів білка. По мірі збільшення розмірів генома, кількість видів закодованих у ньому молекул білка зростає. Віріон вірусу простого герпесу 1 містить вже 39 видів молекул білка, а віріон вірусу *Paramesidium bursaria* *Chlorella* virus 1 – біля 100 типів білків.

Білки, що є компонентами віріонів, виконують декілька функцій. Найбільш очевидна функція – побудова капсиду для захисту вірусного генома. Крім того, у багатьох вірусів білки забезпечують прикріплення віріона до клітини хазяїна, злиття оболонки віріонів з плазматичною мембраною, реплікацію, транскрипцію тощо. До складу віріонів можуть входити ферменти (протеази, зворотні транскриптази, фактори транскрипції), білкові праймери для реплікації нуклеїнової кислоти, фактори пригнічення імунної відповіді хазяїна тощо.

Важливо усвідомити, що далеко не всі білки, які кодуються геномом вірусу, присутні у складі віріона: значна кількість білків синтезуються лише під час перебування вірусу у складі клітини. Відповідно, вірусні білки можна розділити на дві групи: **структурні** (VP, *virion proteins*), які входять до складу зрілого віріону, і **неструктурні** (NS, *non-structural*), які кодуються геномом вірусу і синтезуються в зараженій клітині, але не пакуються в зрілу вірусну частку.

**Вірусні РНК в ДНК-геномних вірусах.** Не зважаючи на висловлене вище загальне правило щодо присутності у складі віріона лише одного типу нуклеїнових кислот, у низці віріонів ДНК-геномних вірусів трапляються короткі молекули РНК. Гепаднавіруси (Hepadnaviridae) і каулімовіруси (Caulimoviridae) містять короткі послідовності РНК, ковалентно зв'язані з їх ДНК. Ці РНК функціонують як праймери під час синтезу ДНК і залишаються прикріпленими до геномів в зрілих віріонах.

Одержані дані, що до складу віріонів герпесвірусів можуть входити вірусні мРНК, але молекулярні деталі цього процесу залишаються невідомими.

## Молекули клітини-хазяїна

Раніше було згадано, що віріони деяких вірусів містять ліпідні мембрани, які мають клітинне походження. До інших молекул клітини, які включаються до складу віріонів, відносяться:

- **транспортні РНК** – наприклад, у ретровірусів;
- **білки** – наприклад, до складу віріону ВІЛ входять циклофілін А, асоційований з капсидом, і антигени лейкоцитів людини, що входять до складу суперкапсиду;
- **поліаміни і катіони**, відповідальні за нейтралізацію негативного заряду вірусного генома під час пакування нуклеїнової кислоти в капсид;
- **вуглеводи**, які входять до складу мембранних глікопротеїнів: фруктоза, сахароза, маноза, галактоза, нейрамінова кислота, ацетилглюкозамін. Вуглеводи можуть складати 10-13% від маси віріону.

Після ознайомлення з цим розділом ви повинні:

- характеризувати структурні компоненти віріона
- знати принципи структурної організації віріонів і різноманіття їх морфології
- пояснювати, чому віріони мають симетричну будову
- знати різноманіття вірусних геномів
- характеризувати функції структурних і не структурних білків вірусів

## Додаткове читання до розділу 2.

1. Костюченко В.А., Месянжинов В.В. Архитектура сферических вирусов // Успехи биологической химии, 2002. Т. 42. С. 177–192.
2. Amos L.A., Finch J.T. Aaron Klug and the revolution in biomolecular structure determination // Trends Cell Biol. 2004. Vol. 14, N. 3. P. 148–152.
3. Caspar D.L., Klug A. Physical principles in the construction of regular viruses // Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 1962. Vol. 27. P. 1–24.
4. Chiu W., Rixon F.J. High resolution structural studies of complex icosahedral viruses: a brief overview // Virus Res. 2002. Vol. 82, N. 1–2. P. 9–17.
5. 3. Crick F.H.C., Watson J. D. Virus structure: general principles // Ciba Foundation symposium on the nature of viruses. London: J. & A. Churchill, 1957. P. 5–13.
6. Johnson J.E., Chiu W. Structures of virus and virus-like particles // Curr. Opin. Struct. Biol. 2000. Vol. 10, N. 2. P. 229–235.
7. Lee K.K., Johnson J.E. Complementary approaches to structure determination of icosahedral viruses // Curr. Opin. Struct. Biol. 2003. Vol. 13, N. 5. P. 558–569.
8. Nadège Ph., Matthieu L., Gabriel D. et al. Pandoraviruses: Amoeba Viruses with Genomes Up to 2.5 Mb Reaching That of Parasitic Eukaryotes // Science. 2013. N. 341 (6143). P. 281–286.

9. Sharma Vol., Colson P. , Chabrol O., Pontarotti P. , Raoult D. *Pithovirus sibericum*, a new bona fide member of the “Fourth TRUC” club. // Frontiers in microbiology. 2015. Vol. 6. P. 722.

## Розділ 3. Класифікація вірусів

### 3.1. Основні підходи до класифікації вірусів

Кількість відомих сьогодні видів вірусів перевищує 7000. Вочевидь, існує необхідність якось упорядкувати це різноманіття та об'єднати близькі види вірусів у групи. Так об'єднання дало б можливість передбачати особливості кожного окремого виду за його належністю до певної групи. Подібна логіка лежить у основі побудови біологічних класифікацій, створенням яких займається окрема наука – систематика.

### 3.2. Класифікація за типом захворювання

Першою і найбільш загальною рисою вірусів є те, що вони є інфекційними агентами. Вже у п.п. XX ст. це дало можливість згрупувати віруси відповідно до хвороб, які вони спричиняють. Такий підхід приваблює своєю простотою, проте ігнорує той факт, що більшість вірусів або взагалі не викликають захворювань, або викликають патологічні стани, які складно охарактеризувати саме як хвороби (наприклад, віруси бактерій, архей та нижчих еукаріотів можуть завдавати своїм хазяям помітну шкоду, але описати їхній вплив у термінах медицини дуже складно). Далі, певний вірус може викликати декілька різних захворювань. Гарним прикладом є вірус вітряної віспи, який під час першого зараження викликає вітрянку, проте за умови реактивації спричиняє вже оперізуючий лишай (оперізуючий герпес). Більш того, існують віруси, що у різних хазяїв викликають різні захворювання, або ж у одних хазяїв викликають патологічні стани, а в інших – ні. Нарешті, віруси, що мають різну молекулярну будову, можуть викликати дуже близькі захворювання. Скажімо, характеристика одного вірусу гепатиту практично нічого не зможе повідомити нам про інших.

### 3.3. Класифікація за систематичною приналежністю хазяїна

Альтернативним класифікаційним підходом є групування вірусів відповідно до систематичної приналежності хазяїв, яких вони інфікують. Такий підхід є обгрунтованішим, оскільки принаймні деякі віруси є похідними від геному свого хазяїна. Проте його практичне застосування викликає певні складності, бо коло хазяїв певного вірусу може бути дуже різним. Одні віруси вражають тільки один вид живих організмів (наприклад, вірус гепатиту В заражає тільки людину). Інші – вражають декілька споріднених видів (наприклад, поліовіруси вражають декілька видів приматів). Нарешті, існують віруси, здатні вражати широке коло неспоріднених хазяїв (наприклад, багато вірусів рослин можуть реплікуватися і в комах-переносниках, і в самих рослинах-хазяях). Таким чином, навіть таке поняття як «віруси рослин» виявляється недостатньо точним: у тій самій мірі вони можуть виявитися і вірусами тварин. Очевидно також, що віруси, які вражають певний вид, можуть не мати між собою нічого спільного, тож детальне вивчення

одного вірусу, який вражає, скажімо, гепатоцити людини, нічого не скаже про фундаментальні властивості інших вірусів, які вражають ті ж самі клітини цього ж виду.

Однак класифікація вірусів на основі систематичної приналежності їхніх хазяїв виявилася ефективною на найвищому таксономічному рівні – рівні доменів. Репродукція вірусів потребує управління клітинними системами реплікації, транскрипції і трансляції, а ці системи суттєво різняться у трьох доменах клітинного світу – у бактерій, архей і еукаріотів. Тому переважна більшість груп вірусів, що мають певну будову та механізм відтворення, здатні заражати лише представників одного з трьох доменів. З 18 перерахованих нами вище морфологічних типів вірусних часток (див. Мал. 2.2) лише третина трапляється у межах більш ніж одного домена. Таким чином, інформація про систематичну приналежність хазяїна на рівні домена дозволяє певною мірою передбачити структурні та функціональні особливості даного вірусу.

### 3.4. Класифікація за морфологією вірусних часток

Коли вірусні частки було розглянуто в електронному мікроскопі, стало очевидно, що вони мають дуже різну будову (див. Мал. 2.2). Ключовими критеріями запропонованих у 1960-70-і рр. морфологічних класифікацій стала наявність або відсутність ліпідної оболонки та типологія капсиду, що у ті роки поділявся на три типи: ізометричний, нитчастий або комплексний (тобто складений з ізодіаметричної та спіральної ділянки). Ізометричні віруси далі підрозділялися на істинно ікосаедричні та ікосадельтаедричні. Класифікація вірусів з ліпідними оболонками також будувалася на структурі нуклеокапсиду, що може бути ізометричним або спіральним. Такі класифікації ґрунтувалися на важливих особливостях вірусів і мали гарну передбачувальну здатність. Однак вони мало що могли повідомити про особливості життя вірусу у клітині хазяїна, де він, власне, набуває властивостей біологічної системи. Тож, хоча морфологія віріонів є важливим таксономічним критерієм, у сучасній класифікації вірусів вона відіграє другорядну роль.

### 3.5. Класифікація Девіда Балтимора на основі складу нуклеїнових кислот і механізмів синтезу мРНК

У 1971 р. лауреат Нобелівської премії Девід Балтимор запропонував класифікацію вірусів, в основу якої була покладена хімічна природа їхнього генома та механізми його реплікації. На відміну від попередніх класифікацій, система Балтімора ґрунтується на особливостях процесів відтворення та реалізації вірусом своєї спадкової інформації, тобто характеризує біологічну сутність цих об'єктів.

В усіх клітинних організмів реалізація спадкової інформації відбувається згідно «центральної догми молекулярної біології»: інформація щодо складу білків та некодуючих РНК записана у геномі, що складається з дволанцюгової ДНК. На

одному з ланцюгів цієї ДНК синтезується одноланцюгова молекула мРНК, а також численні некодуєчі РНК. Далі мРНК слугує зразком для створення молекули білка, що здійснюється рибосомами.

На відміну від клітин, віруси дуже часто порушують вищенаведену схему, тож для опису їхньої репродукції потрібні додаткові терміни. Геноми вірусів можуть бути представлені длДНК, одДНК, длРНК та олРНК (див. розділ 2.7). Геноми, утворені олРНК, можуть належати до двох типів. Ті з них, що являють собою функціональні мРНК називають позитивно-смысловими РНК або (+)РНК. А ланцюги РНК, комплементарні (+)РНК, називають негативно-смысловими, або (–)РНК. З урахуванням цих та інших даних класифікація Д. Балтімора розрізняє сім класів вірусів (Мал. 3.1).

**Клас 1** включає віруси, геном яких складається з длДНК. Її реплікація відбувається в ядрі з використанням ферментів клітини-хазяїна. Винятком є родина *Rovviridae*, в якій реплікація відбувається в цитоплазмі з використанням ферментів, що кодуються вірусом.

**Клас 2** включає віруси з олДНК. Після потрапляння до клітини, ДНК стає дволанцюговою, після чого відбувається транскрипція. Реплікація ДНК відбувається в ядрі.

**Клас 3** включає віруси, геном яких представлений длРНК. Усі відомі віруси цього класу мають сегментований геном. Транскрипція відбувається на одному з двох ланцюгів кожного сегменту геномної РНК. Оскільки клітини хазяїна зазвичай не мають ферментів для синтезу мРНК на геномній РНК-матриці вірусу (такі ферменти відомі лише в деяких рослин та протистів), вони кодуються геномом вірусу. Більше того, оскільки ці ферменти потрібні вірусу для запуску репродукції, вони повинні входити до складу віріона.

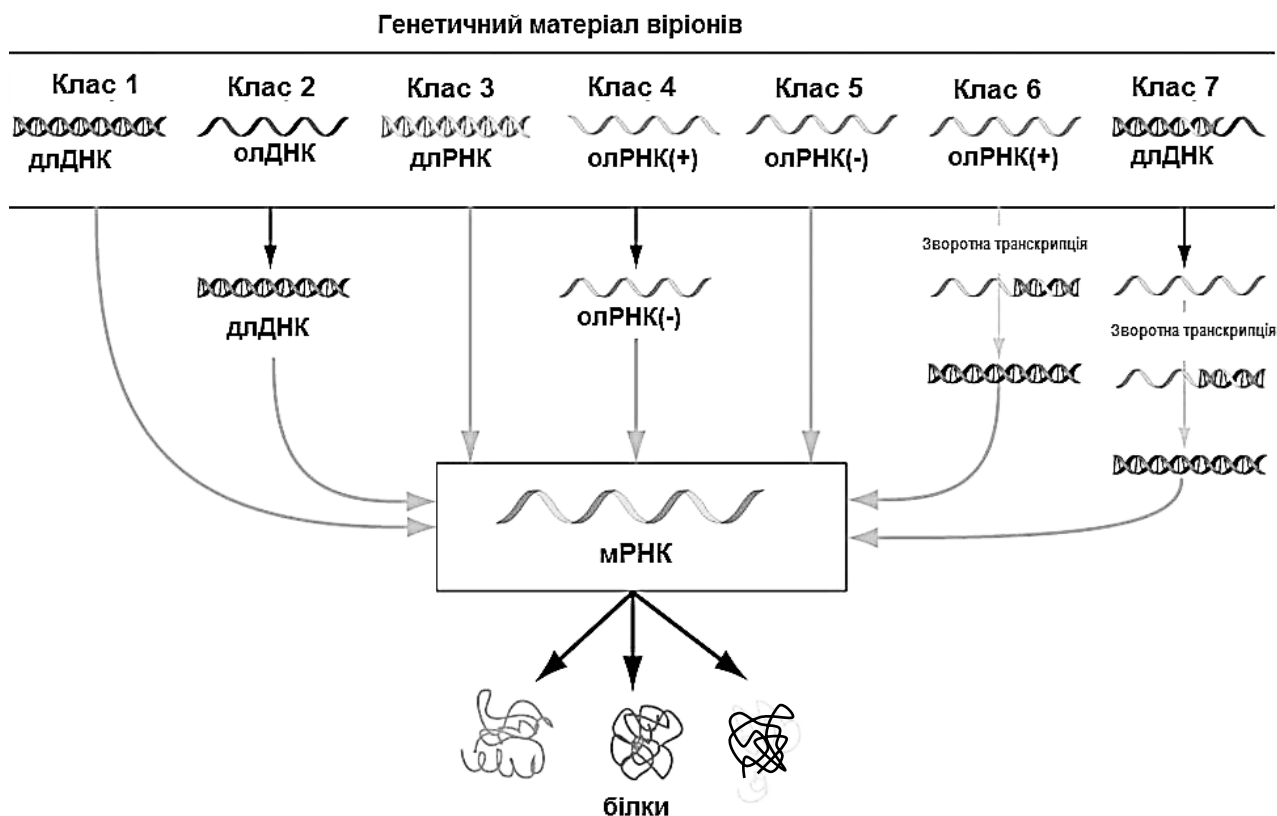
**Клас 4** включає віруси, геном яких представлений ол(+)РНК, що фактично являє собою матричну РНК. Трансляція може відбуватися або безпосередньо на цій геномній РНК, або ж на ній синтезується (–)РНК, а вже на останній – власне мРНК. Ферменти, що каталізують ці процеси, не входять до складу віріона, а транслюються на геномній РНК.

**Клас 5** включає віруси, геном яких утворений ол(–)РНК. Ця молекула слугує матрицею для синтезу мРНК. Вказаний процес каталізується вірусним ферментом, що міститься у віріоні. Реплікація відбувається в цитоплазмі або ядрі.

**Клас 6** включає віруси, які, так само як і представники класу 4, містять в геномі ол(+)РНК. Проте перед реплікацією за участю вірусного ферменту – *зворотної транскриптази* – на цій РНК синтезується дволанцюгова ДНК, що далі слугує матрицею для синтезу мРНК.

**Клас 7** включає невелику групу вірусів, званих реверсивірусами (*reversivirus*), які спочатку були віднесені до класу 1, оскільки їх геном представлений дволанцюговою ДНК. Проте ця ДНК використовується вкрай незвично: на ній формується олРНК, а вже на ній, за допомогою зворотної транскриптази вірусу, знову

синтезується длДНК. І от ця новосинтезована ДНК слугує матрицею для синтезу мРНК.



*Мал. 3.1 Класифікація вірусів за Д. Балтімором.*

Класифікація Балтімора у сучасній вірусології є фактично загальноприйнятою. Віруси у ній розподіляються по класах на підставі фундаментальних незмінних характеристик, тож сам факт приналежності вірусу до певного класу дозволяє детально описати молекулярні процеси, які відбуваються в інфікованій клітині. Зокрема, ця класифікація дозволяє передбачити, чи буде інфекційною сама по собі вірусна нуклеїнова кислота, чи для інфекції потрібна ціла вірусна частка.

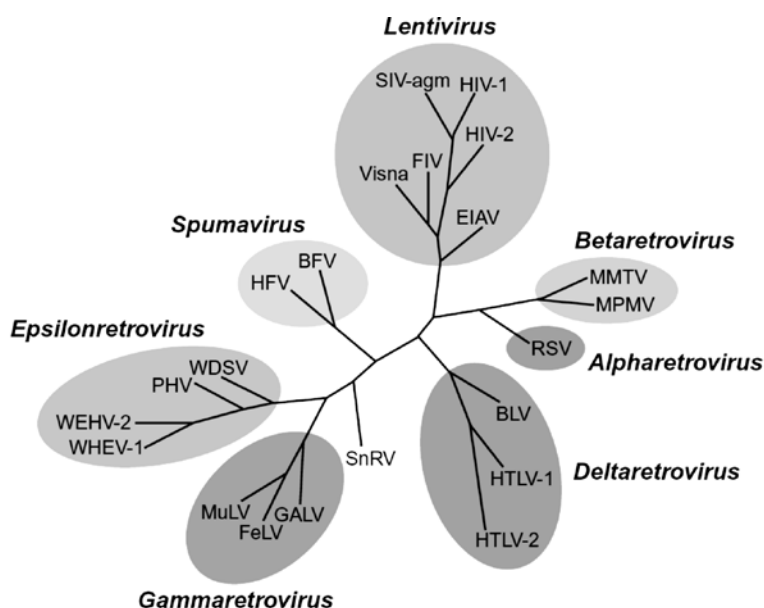
Недоліком класифікації Балтімора є та обставина, що в ній вірусів не враховується морфогія вірусних часток. Наприклад, до класу 1 входять разом бактеріофаг Т2 і вірус віспи, які радикально розрізняються за структурою і біологією. Тож для одержання повної картини різноманіття вірусів класифікація Балтімора є необхідною, але недостатньою.

### 3.6. Філогенетична класифікація вірусів

Різноманіття живих систем є безпосереднім результатом еволюції їхніх геномів. Відповідно, найкращім способом опису цього різноманіття є опис родинних зв'язків між організмами. У зв'язку з цим *філогенез*, тобто послідовність утворення груп у процесі еволюції, став основним критерієм класифікації живих організмів.



Віруси також мають геноми, що є продуктами еволюції, тож їхню класифікацію також можна побудувати на філогенетичному принципі. Але, на відміну від клітинних організмів, віруси не мають спільного предка. Різні групи вірусів виникли незалежно одна від одної. Більш того, навіть віруси, що мають однаковий цикл репродукції і подібну будову віріона потенційно можуть виявитися абсолютно неспорідненими. У зв'язку з цим, єдине еволюційне дерево вірусів побудувати неможливо, а значить неможливо і створити для них єдину філогенетичну класифікацію. Для кожної групи споріднених вірусів, це, однак, цілком можливо (Мал. 3.2).



**Мал. 3.2.** Філогенетичні зв'язки між вірусами родини *Retroviridae*, встановлені шляхом порівняння консервативних регіонів гена зворотної транскриптази. *HIV1* і *HIV2* – віруси імунodefіциту людини 1 і 2 відповідно (за А.М.О. King et al., 2012).

У зв'язку з вищезазначеною обставиною, вірусологи пішли наступним шляхом. Види вірусів, для яких була доведена спорідненість і походження від спільного предка, вони поєднали у роди, родини а іноді й порядки. Далі, ці порядки (а також численні родини, не віднесені до жодного порядку) були розподілені по класах системи Балтімора. Так виникла сучасна, філогенетична класифікація вірусів.

У 2017 р. групи під керівництвом А. Горбаленьї та Ю. Вольфа запропонували для РНК-вірусів систему вищих таксонів, включаючи класи, підвідділи, відділи і так звані *реалми* (від англ. «realm», що можна перекласти як «місцевість» або «державу»; цей термін покликаний стати вірусологічним аналогом рангу царства). Класам Балтімора у цій класифікації відповідають відділи, а власне класи є значно меншими за обсягом і, відповідно, численнішими. Таким чином, система А. Горбаленьї та Ю. Вольфа суттєво змінює звичну структуру класифікації вірусів. Однак вона поки що не поширюється на ДНК-віруси та віруси, що мають

зворотною транскрипцією, тож повноцінною альтернативою існуючої системи наразі вважатися не може.

### 3.7. Номенклатура вірусів

У 1966 р. на міжнародному мікробіологічному конгресі в Москві був заснований Міжнародний комітет з номенклатури вірусів, який в 1973 р. був перейменований в Міжнародний комітет таксономії вірусів. Цей комітет розробив принципи найменування таксономічних груп вірусів, які були зведені у Міжнародний кодекс таксономії вірусів (МКТВ). Згідно з вимогами МКТВ, номенклатура вірусів слідує наступним принципам.

1. Таксони вірусів, залежно від рангу, мають стандартні закінчення (Табл. 3.1). На відміну від клітинних організмів, роди вірусів також мають стандартне закінчення.

**Таблиця 3.1.** Стандартні закінчення назв таксонів вірусів відповідно до їхнього рангу.

Ранг таксона	Стандартне закінчення	Приклад назв
Реалм (realm)	-viria	Riboviria
Відділ	-viricota	Negarnaviricota
Підвідділ	-viricotina	Haploviricotina
Клас	-viricetes	Ellioviricetes
Порядок	-virales	Herpesvirales
Родина	-viridae	Herpesviridae
Підродина	-virinae	Alphaherpesviricae
Рід	-virus	Simplexvirus

2. Види вірусів не є біологічними видами. Вони визначаються як політетичні класи<sup>1</sup>, що утворюють низку поколінь і займають певну екологічну нішу (визначення, дане МКТВ у 1991 р.).

3. Назва виду вірусу не відповідає принципам бінарної номенклатури і не містить назву роду. Як правило, вона складатися з двох слів, з яких перше містить назву хвороби, ознаку чи хазяїна, а друге обов'язково містить корінь «virus» (наприклад, *Measles virus* – вірус кори, *Psittacid herpesvirus* – попугаячий герпесвірус). Назва виду може також містити літерні (*Bovine adenovirus A*), цифрові (*Human herpesvirus 1*) або комбіновані (*Escherichia virus T4*) позначення.

4. МКТВ не виділяє таксони вірусів нижче виду, проте в практиці і наукових дослідженнях використовують внутривидову диференціацію вірусів за антигенами, серотипами, генотипами, електрофоретипами тощо, залежно від вживаних методів дослідження.

<sup>1</sup> Політетичний клас – об'днання, що має великий набір ознак, більшість з яких є у кожного представника даного класу, але немає жодної ознаки, яку обов'язково повинен мати кожний представник класу.

У Дев'ятому звіті МКТВ (2012 р.) наведені 2284 видів вірусів, які об'єднані в 349 родів, 19 підродин та 87 родин. Наведені також 6 порядків, до яких віднесено 22 родини. Інші родини до порядків не віднесені. У звіті також перераховані численні види вірусів, які доки не віднесені до родин або родів.

Після ознайомлення з цим розділом ви повинні:

- знати критерії, які використовують у класифікації вірусів
- правильно писати латинські назви порядків, родин і родів вірусів
- знати підґрунтя, на якому базується класифікація вірусів за Д. Балтімором
- характеризувати сім класів вірусів, які виділяє класифікація Д. Балтімора
- давати визначення виду вірусів

### **Додаткове читання до розділу 3.**

1. Сайт Міжнародного комітету таксономії вірусів (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV): <http://ictvonline.org/index.asp?bhcp=1>

2. King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J. (eds.) Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. 2012. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2012. 1327 p.

3. Сайт швейцарського інституту біоінформатики Viral Zone. <https://viralzone.expasy.org>

## Розділ 4. Реплікація вірусів у клітині хазяїна

### 4.1. Основні етапи реплікації вірусів

З точки зору молекулярних і біохімічних подій, на рівні окремої клітини цикл реплікації вірусу зручно розділити на декілька етапів:

1. Прикріплення вірусу до поверхні клітини;
2. Проникнення вірусу в клітину і декапсидація («роздягання») вірусного геному шляхом повного або часткового видалення білків капсиду;
3. Експресія генів вірусу (синтез вірусних матричних РНК; синтез вірусних білків);
4. Реплікація нуклеїнової кислоти генома вірусу;
5. Збирання білків і геномних нуклеїнових кислот у віріони;
6. Вихід віріонів з клітини.

Наведена схема представляє зручний шаблон для розгляду циклу репродукції вірусів. Слід, проте, мати на увазі, що відомі значні відмінності, пов'язані як з особливостями клітин-хазяїв, так і з особливостями вірусів. Наприклад, у вірусів рослин відсутні стадії прикріплення і проникнення, а у деяких інших вірусів після декапсидації відбувається трансляція. Відомі також і віруси, цикл реплікації яких містить додаткові етапи.

Інфекційний процес починається тоді, коли разом зустрічаються вірусна частка і клітина-мішень, проте така зустріч відбувається по-різному у бактеріофагів, вірусів рослин і вірусів тварин. Первинна взаємодія вірусів тварин з клітинами хазяїв відбувається в результаті простої дифузії, оскільки розміри вірусної частки малі, і вона в рідкому середовищі знаходиться в постійному броунівському русі. Ймовірно, бактеріофаги також зустрічаються з клітинами бактерій в результаті дифузії. А от віруси рослин у більшості випадків вносяться у цитоплазму рослинної клітини завдяки активності переносників або внаслідок механічних ушкоджень.

Слід звернути увагу, що вірусні частки – віріони – є стабільними структурами, цілісність яких підтримується мережею міжмолекулярних взаємодій. Віріони досить стійкі до стресових дій зовнішнього оточення або позаклітинного середовища протягом передавання від клітини до клітини і від одного хазяїна до іншого. Проте їхня стабільність повинна бути оборотною, оскільки протягом зараження нової клітини відбувається часткове або повне розбирання вірусної частки і вивільнення геному і потрібних вірусу білків. Таким чином, зв'язки, які стабілізували частку, мають бути розірвані, капсид повинен відкритися, а геномна нуклеїнова кислота – прийняти неконденсовану форму. Щоб це стало можливим, ціла вірусна частка або її специфічні білки повинні бути здатні до швидких конформаційних змін, які запускаються під час входу вірусу до клітини і не потребують зовнішніх джерел енергії.

#### 4.2. Вхід до клітини і внутрішньоклітинний транспорт

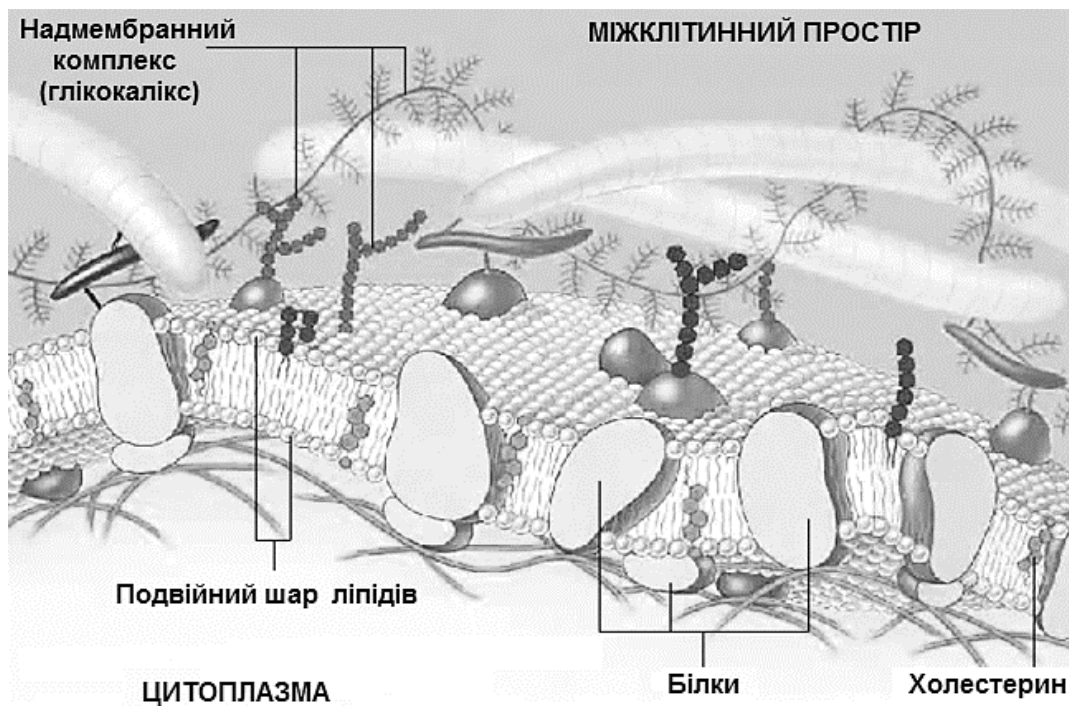
Вхід вірусу до клітини і декапсидація у типовому випадку відбуваються шляхом декількох контрольованих послідовних кроків. Протягом реалізації програми входу, вірусна частка зазнає змін, які призводять до низки подій, таких як проникнення у клітину, дестабілізація капсиду і «роздягнення» геному. Багато з цих подій є наслідком конформаційних змін метастабільних структур віріону. Такі зміни ініціюються зв'язуванням з рецепторами, дією низького рН, переміщенням у відновлюване оточення, індукованими ферментами ковалентними модифікаціями та іншими сигналами клітини-хазяїна. Ці сигнали не тільки індукують зміни у віріоні і дисоціацію білкових субодиниць, але й координують переміщення з одного місцерозміщення у клітині до іншого, що гарантує, що кожний етап програми декапсидації буде відбуватися у вірній послідовності у вірний час і вірному місці.

Клітина, яку вірус уражує, у свою чергу реагує на сигнали, які ініціює вірус. Простим прикріпленням до рецепторів багато вірусів «відчиняють двері» у клітину за допомоги активації каскадів клітинних сигналів. Часто така активація є важливою, оскільки запускає процеси, наприклад ендоцитоз, які є ключовими у вході вірусу до клітини.

Віруси, які інфікують клітини тварин з одного боку і клітини рослин, архей і бактерій з іншого боку, використовують різні стратегії входу, оскільки останні мають клітинні стінки. Віруси дріжджів і інших грибів не мають позаклітинної фази циклу реплікації, тому процеси прикріплення і проникнення у вірусів грибів не відбуваються.

**Віруси тварин: прикріплення.** Клітини тварин оточені ліпідним бішаром – плазматичною мембраною. Оскільки віруси є облігатними внутрішньоклітинними інфекційними агентами, їх геном повинен потрапити усередину клітини, щоб цикл реплікації почався. Першим кроком у проникненні віріону в клітину є прикріплення до поверхні, яке обумовлене зв'язуванням вірусної частки зі специфічним рецептором.

У плазматичній мембрані «заякорені» молекули глікопротеїнів і гліколіпідів, які формують на зовнішній поверхні багатьох клітин свого роду «ворс», позаклітинний матрикс, так званий глікокалікс. Молекули глікокаліксу забезпечують міжклітинні взаємодії і адгезію, виконують функції рецепторів, транспортерів і багато інших (Мал. 4.1). Рецепторами для вірусів можуть слугувати різноманітні поверхневі білки, вуглеводи і ліпіди. Але природа не створила для вірусів спеціальних рецепторів на поверхні сприйнятливих клітин. В нормі вони мають клітинні функції, не пов'язані з вірусами.



*Мал. 4.1. Будова клітинної мембрани та глікокаліксу.*

Технічно прикріплення вірусу складається із специфічної взаємодії вірусного білка, що зветься «антирецептором» або «білком прикріплення», з молекулою рецептора клітини. Тут важливо не допустити плутанини в термінології. Не можна говорити про рецептори, які є у вірусів. У вірусів немає рецепторів, у них є білки прикріплення або антирецептори. А ось клітина-хазяїн має рецептори, з якими можуть зв'язуватися віруси. Ці рецептори називають рецепторами вірусів. Але це не рецептори, які **мають** віруси.

Вірусні білки прикріплення часто (але не завжди) утворюють виступи на поверхні віріона, проте власне антирецептор (функціональна частина молекули білка прикріплення), як правило, екранований від випадкових взаємодій і знаходиться в заглибленні. Як приклад білків прикріплення, що виступають над поверхнею віріона, можна навести гемаглютинін вірусу грипу (родина Orthomyxoviridae), VP4 ротавірусу (родина Reoviridae), фімбрії аденовірусів (родина Adenoviridae). У ентеровірусів (родина Picornaviridae) антирецептор знаходиться на дні так званих каньйонів – поглиблень на поверхні капсиду.

Сили, які зв'язують сайт прикріплення вірусу з рецептором клітини, включають водневі зв'язки, іонні взаємодії і сили Ван-дер-Ваальса. Ніяких ковалентних зв'язків між віріоном і рецептором не утворюється.

У багатьох вірусів зв'язування білка прикріплення з рецептором відбувається за принципом комплементарності і є дуже специфічним: вірус може заражати тільки ті клітини, на поверхні яких є відповідний рецептор. Відповідність клітинних рецепторів і вірусних білків прикріплення визначає **тропізм** вірусу (від грець. τροπος – «поворот», «напрямок»), тобто здатність вибірково вражати певні

клітини. Тропізм вірусу – здатність вірусів заражати клітини певного виду або типу; коло клітин-хазяїв обмежується тими клітинами, які експресують рецептори, використовувані вірусами для проникнення в клітину. Термін «тропізм» еквівалентний термінам «органотропність» або «тканинна специфічність». Наприклад, віруси, що вражають печінку, називають гепатотропними, віруси, що репродукуються в клітинах нервової системи, називають нейротропними тощо. Але тропізм може бути обумовлений і багатьма іншими детермінантами, окрім поверхневих рецепторів.

Хоча взаємодія вірусу з рецептором клітини часто є високо специфічною, проте в межах родини віруси можуть використати той самий рецептор. Одним важливим виключенням є модифікований вуглевод, *N*-ацетилнейрамінова кислота, яка часто утворює термінальні залишки вуглеводних груп глікопротеїнів і гліколіпідів і править за рецептор вірусам різних родин.

Для віріонів деяких вірусів достатньо зв'язування з молекулами рецептора одного типу, щоб було ініційоване проникнення в клітину. Проте віріони інших вірусів, після зв'язування з рецептором, потребують зв'язування з молекулою іншого білка, щоб вхід до клітини відбувся. В такому випадку додатковий білок називають вторинним рецептором або корецептором.

Низка вірусів зв'язується з різними типами молекул рецепторів в певній послідовності. Ця послідовність представлена рецепторами з низькою спорідненістю, первинними рецепторами і корецепторами, або вторинними рецепторами. Спочатку віруси зв'язуються з факторами адгезії, що мають низьку спорідненість до білка прикріплення. Цей тип факторів у великій кількості представлений на клітинній поверхні і має низьку специфічність і низьку спорідненість до вірусних часток. Ці рецептори служать для виймання вірусів з рідкого оточення і встановлення прямого контакту вірусу з поверхнею клітини. В ролі цих факторів низка вірусів, включаючи вірус імунодефіциту людини 1 (ВІЛ-1, родина *Retroviridae*), використовують гепарани (біологічно активні полісахариди, які існують тільки у вигляді сульфатів), тоді як інші віруси використовують інший цукор, *N*-ацетилнейрамінову кислоту. Це зв'язування часто є оборотним, і вірус може від'єднатися від клітини.

Далі вірус зв'язується з іншими молекулами поверхні клітини, первинними рецепторами і корецепторами, що призводить до міцного безповоротного закріплення вірусної частки і зараження. Рецептори розподілені в мембрані клітини дифузно. Рухливість (плинність) білково-ліпідного шару мембрани визначає можливість концентрації рецепторів в обмеженій ділянці. Така концентрація сприяє утворенню множинних зв'язків між рецепторами і антирецепторами, які потрібні для необоротної адсорбції вірусу. Кількість молекул рецептора в ділянці адсорбції вірусу може досягати декількох тисяч.

Перелік ідентифікованих рецепторів для вірусів надзвичайно великий і постійно поповнюється новими членами. Деякі приклади наведені нижче (Табл. 4.1).

**Таблиця 4.1.** Приклади молекул поверхні клітин тварин, які віруси використовують як рецептори.

Молекула	Нормальна функція	Вірус	Тип рецептора
ICAM-1	Зчеплення з іншими клітинами через CD54	Більшість риновірусів	Первинний
CAR (рецептор Коксаки-аденовірусів)	Унікальний білок з невідомою функцією	Багато аденовірусів, віруси Коксаки	Первинний
$\alpha\beta_x$ інтегрин	Зчеплення з іншими клітинами через вітронектин	Аденовіруси	Корецептор
$\alpha\beta_6$ інтегрин	Зчеплення з іншими клітинами через вітронектин	Вірус ящура	Первинний
CD4	Ліганди для МНС* II Т-хелперних клітин	ВІЛ-1, ВІЛ-2, SIV**	Первинний
CCR5	Білок з 7 трансмембранними доменами, який зв'язує С-С хемокіни	ВІЛ-1, ВІЛ-2, SIV	Корецептор
CXCR4	Білок з 7 трансмембранними доменами, який зв'язує С-Х-С хемокіни	ВІЛ-1, ВІЛ-2, SIV	Корецептор
Вірус-специфічний IgG	Зв'язується з вірусом	Вірус лихоманки Денге	Первинний
N-ацетилнейрамінова кислота (термінальний залишок)	Залишок у вуглеводному ланцюзі глікопротеїнів і гліколіпідів	Віруси грипу А, В, С і віруси деяких інших родин	Первинний
Фосфатидилсерин	Компонент ліпідної мембрани	Вірус везикулярного стоматиту	Первинний

\*МНС (major histocompatibility complex) – головний комплекс гістосумісності.

\*\*SIV (simian immunodeficiency virus) – вірус імунодефіциту мавп.

Для низки вірусів рецепторами є мембранні молекули суперродини інтегринів. Інтегрини – молекули адгезії, що знаходяться на поверхні клітин і пов'язані з цитоскелетом. Вони є гетеродимерами (складаються з двох ланцюгів –  $\alpha$  і  $\beta$ ). Ідентифіковані близько 20 членів цього суперсімейства, які утворюються за рахунок різних комбінацій  $\alpha$ - і  $\beta$ -ланцюгів. Для інших вірусів рецепторами є молекули адгезії або молекули суперродини імуноглобулінів. Так, головним рецептором для ВІЛ-1 і ВІЛ-2 (родина Retroviridae) є молекула CD4, для риновірусів (родина Picornaviridae) – молекула адгезії ICAM-1, для поліовірусів (родина Picornaviridae) – CD44 антиген.

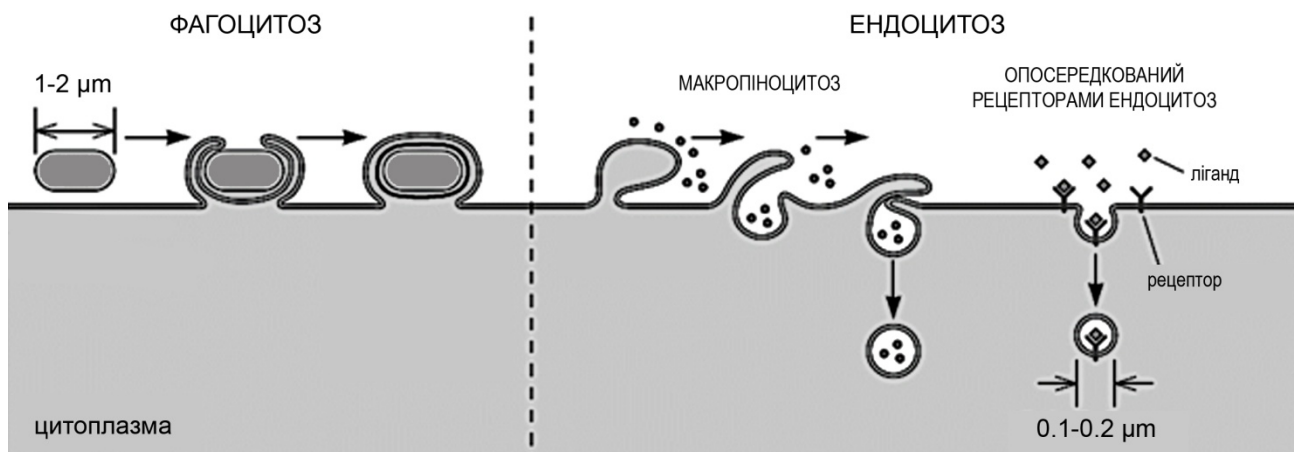
Окрім білків, рецепторами вірусів можуть виступати вуглеводи, наприклад згадана вище N-ацетилнейрамінова кислота. Коли вона виявляється останнім вуглеводним залишком у вуглеводному ланцюзі глікопротеїнів або гліколіпідів, вона може правити за рецептор для вірусів грипу і вірусів деяких інших родин. Звичайнісінький компонент ліпідних мембран – фосфатидилсерин – є рецептором для вірусу везикулярного стоматиту (родина Rabdoviridae).



**Віруси тварин: вхід до клітини.** Прикріплення вірусу до рецепторів на поверхні клітини запускає низку подальших подій. Коли з вірусом зв'язується деяка критична кількість рецепторів, це служить сигналом початку процесів проникнення. Взаємодія з рецепторами готує вірусну частку до введення вірусного генома в цитоплазму клітини хазяїна, спричиняючи зміни конформації білків оболонки та/або капсиду. На відміну від прикріплення, проникнення вірусу в клітину є енергозалежним процесом, тобто клітина має бути метаболічно активна, щоб воно могло статися.

Задля того, щоб геноми вірусів і інші необхідні для реплікації компоненти вірусної частки потрапили усередину клітини, вони повинні перетнути одну або більше мембран. Це не є тривіальним завданням, оскільки мембрани є дуже ефективним бар'єром на шляху вірусних часток і навіть окремих білків або молекул нуклеїнових кислот. Геноми або нуклеокапсиди деяких вірусів потрапляють до цитозолу через плазматичну мембрану. Інші віруси спочатку поглинаються клітиною за рахунок ендоцитозу, і до цитозолу потрапляють через мембрану ендономи.

Як відомо, плазматична мембрана, що оточує клітину, є дуже мобільною і активною структурою. Клітини постійно поглинають деякі фрагменти свого безпосереднього оточення за допомогою ендоцитозу, або здійснюють зворотний процес експорту речовин з клітини в процесі екзоцитозу. Загалом, виділяють декілька механізмів, з допомогою яких макромолекули поглинаються клітиною з оточення (Мал. 4.2).



**Мал. 4.2.** Механізми, з допомогою яких клітини поглинають позаклітинні частки і макромолекули. Протягом фагоцитозу, великі частки, наприклад бактерії або фрагменти клітин, поглинаються завдяки витяганню плазматичної мембрани. Ендоцитоз являє собою інвагінацію і стягування невеликої ділянки плазматичної мембрани, внаслідок чого відбувається або неспецифічне поглинання макромолекул (макропіноцитоз), або специфічне поглинання молекул, зв'язаних з поверхневими рецепторами (опосередкований рецепторами ендоцитоз) (за L.W. Enquist et al., 2015).

Ендоцитоз використовується клітиною для виконання численних функцій, серед яких поглинання поживних речовин, захист від патогенів і передача сигналів гормонів, які зв'язуються з рецепторами на поверхні клітин.

Існують декілька механізмів ендоцитозу, до яких входить залежний від клатрина ендоцитоз і залежний від кавеоліна ендоцитоз. Клітинні білки клатрин і кавеолін, що покривають деякі ділянки плазматичної мембрани клітини з внутрішнього боку, обумовлюють необхідну кривизну вгинання мембрани, сприяючи утворенню ендоцитозних везикул. Багато вірусів, наприклад аденовіруси (родина *Adenoviridae*), зазнають ендоцитоз через покритий клатрином регіон мембрани. Віріони опиняються в покритих клатрином ендосомах; проте незабаром ці ендосоми втрачають клатрин. У інших вірусів, таких як вірус приматів 40<sup>1</sup> (*SV40*, родина *Polyomaviridae*), ендоцитоз відбувається через ділянки мембрани, покриті кавеоліном; зрештою ці віруси опиняються в покритих кавеоліном ендосомах. Нарешті, ендоцитоз низки вірусів не залежить від клатрина або кавеоліна.

Віруси, віріони яких мають ліпідну оболонку і віруси з віріонами без оболонки потрапляють усередину клітини за рахунок дії різних механізмів.

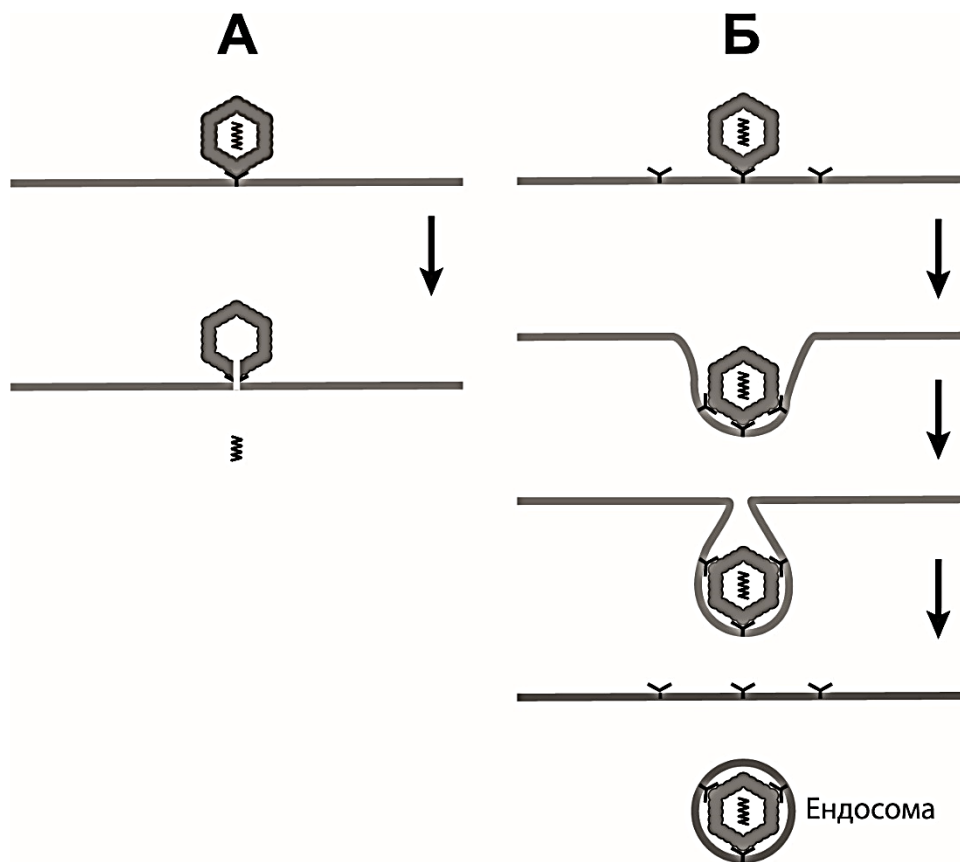
**Проникнення вірусів, що не мають ліпопротеїнової оболонки.** Деякі віруси, віріони яких не мають ліпопротеїнової оболонки (наприклад, окремі види пікорнавірусів) доставляють свої геноми в клітину хазяїна через пору в плазматичній мембрані; у такому випадку капсид залишається зовні клітини (Мал. 4.3А). Але найчастіше спостережуваним для вірусів без оболонки механізмом проникнення в клітину є обумовлений рецепторами ендоцитоз (Мал. 4.3Б). Вміст ендосоми, проте, є частиною зовнішнього оточення клітини, і віріон у ендосомі все ще знаходиться не в цитоплазмі. Механізми, за допомогою яких віріони і їх геноми вивільняються з ендосоми, не є повністю зрозумілими.

Ймовірно, вивільнення генома в цитоплазму залежить від конформаційних змін білків віріона, які можуть ініціюватися зв'язуванням вірусу з рецепторами у везикулі та/або змінами внутрішнього рН везикули. Ендосоми, що містять віріони, можуть зливатися з іншими везикулами, такими як лізосоми, які мають рН 4,8–5,0; це знижує рН усередині ендосоми з віріоном. Подальше зниження рН може відбуватися за рахунок закачування протонів пов'язаними з мембраною ендосоми АТФазами (протонними помпами). Пониження рН призводить до конформаційних змін білків віріона, в результаті яких вивільняється раніше прихований гідрофобний регіон білка. Цей регіон вбудовується в мембрану везикули і утворює канал, через який геном і асоційовані з ним білки виходять в цитоплазму.

---

<sup>1</sup> Він був так названий, оскільки виявився 40-м вірусом, виділеним з приматів.

Утворення пори у мембрані не є єдиним механізмом доставляння вірусного генома до цитозолю. Деякі віруси, наприклад аденовіруси (родина Adenoviridae) у відповідь на зниження рН індукують лізис мембрани ендосоми.

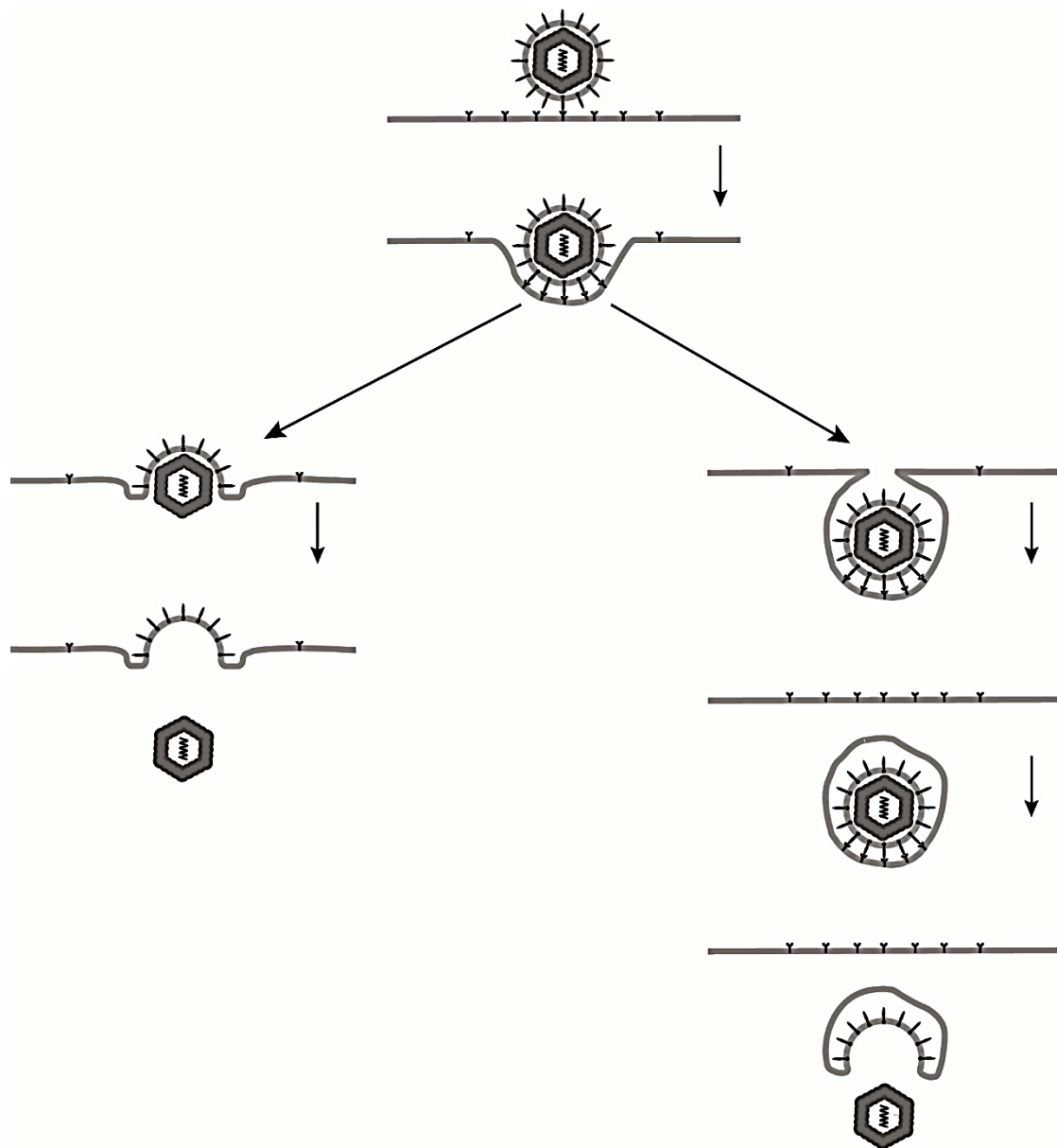


**Мал. 4.3.** Механізми проникнення в клітину вірусів, що не мають оболонки. А – після прикріплення віріона до рецептора або рецепторів на поверхні клітини, в капсиді ймовірно утворюється канал, а в плазматичній мембрані пора, через які геном переходить в цитоплазму клітини. Б – опосередкований рецепторами ендоцитоз вірусу у внутрішньоклітинну вакуоль (ендосому).

**Проникнення вірусів, які мають ліпопротеїнову оболонку.** Після приєднання до клітинних рецепторів вірусів, віріони яких оточені ліпідною оболонкою, можуть відбуватися дві події: або оболонка віріона зливається з плазматичною мембраною, або відбувається опосередкований рецепторами ендоцитоз, і оболонка віріона зливається з мембраною ендосоми (Мал. 4.4). Обидві ці події включають процес злиття оболонки віріона з мембраною клітини (з плазматичною мембраною або з мембраною везикули).

Злиття мембран є універсальним біологічним явищем, яке відбувається під час безлічі процесів, від запліднення до транспорту мембранних везикул усередині клітини. Проте ліпідний бішар є стабільною структурою, і злиття ліпідних мембран не відбувається спонтанно. Кожен оточений оболонкою вірус має спеціалі-

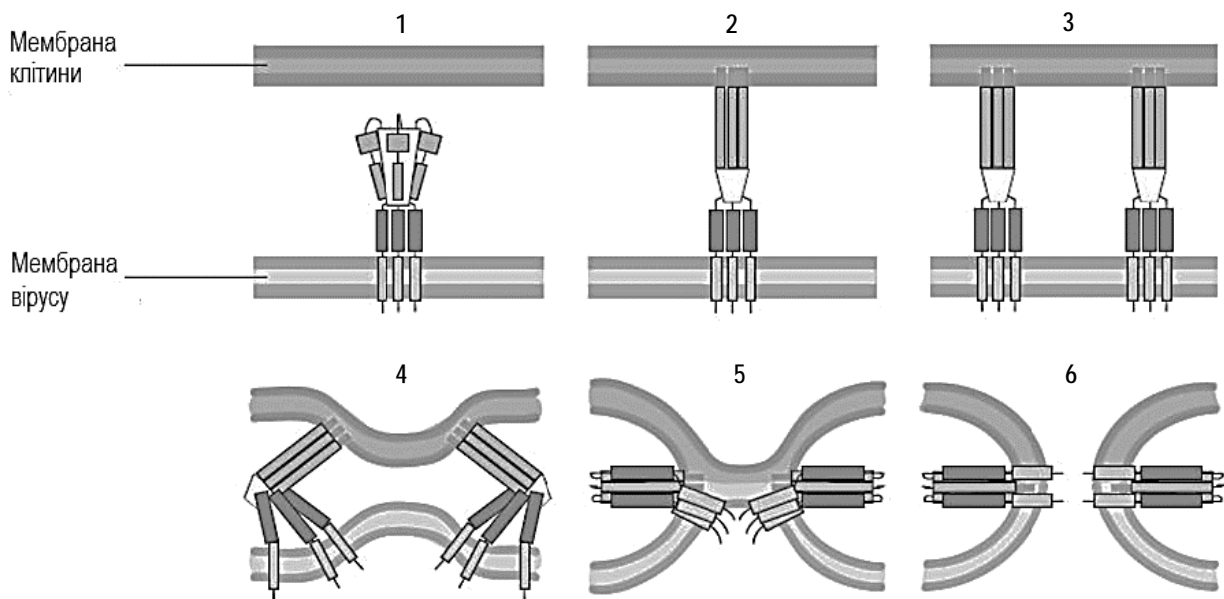
зовані глікопротеїни, які і відповідають за злиття мембран. Процес злиття мембран може залежати від низького рН, як це спостерігається у вірусів грипу (родина Orthomyxoviridae), або бути незалежним від рН, як у вірусів герпесу (родина Herpesviridae) або ВІЛ (родина Retroviridae).



**Мал. 4.4.** Механізми входу в клітину вірусів, покритих оболонкою. Пояснення див. в тексті.

Для того, щоб злиття мембран сталося, бішари оболонки вірусу і мембрани клітини мають бути розірвані в деякій загальній точці, так що їх гідрофобні внутрішні частини опиняються в невідповідному оточенні, і потім переформуються у єдиний бішар. До теперішнього часу не зовсім ясно, як це відбувається. Найбільша кількість інформації є стосовно ВІЛ-1 (родина Retroviridae, Мал. 4.5). Частка ВІЛ-1 зливається безпосередньо з ліпідним бішаром плазматичної мембрани. Злиття бішару оболонки ВІЛ-1 з плазматичною мембраною ініціюється успішною взаємодією вірусу з рецепторами. Ця взаємодія запускає конформаційні

зміни у білка оболонки, які призводять до виставлення гідрофобних термінальних сегментів білка оболонки віріона gr41. Цей білок є тримером, який закорений в оболонці вірусу, і в нормі його гідрофобні частини займають приховане положення біля мембрани віріона. Після конформаційних змін ці N-термінальні гідрофобні частини вставляються в ліпідний бішар клітинної мембрани. Далі певна кількість молекул gr41 формує гідрофобний канал між двома мембранами, зближують бішари так, що вони з'єднуються і формують перемичку. Нарешті, перемичка розривається, бішари вірусу і мембрани клітини з'єднуються, і утворюється пора, яка збільшується в розмірах до величини, необхідної для проходження в цитоплазму нуклеокапсиду.



**Мал. 4.5.** Імовірний механізм злиття плазматичної мембрани клітини-хазяїна і мембрани оболонки віріона ВІЛ-1 за участю вірусного білка злиття gr41. Цифрами позначені послідовні етапи злиття мембран.

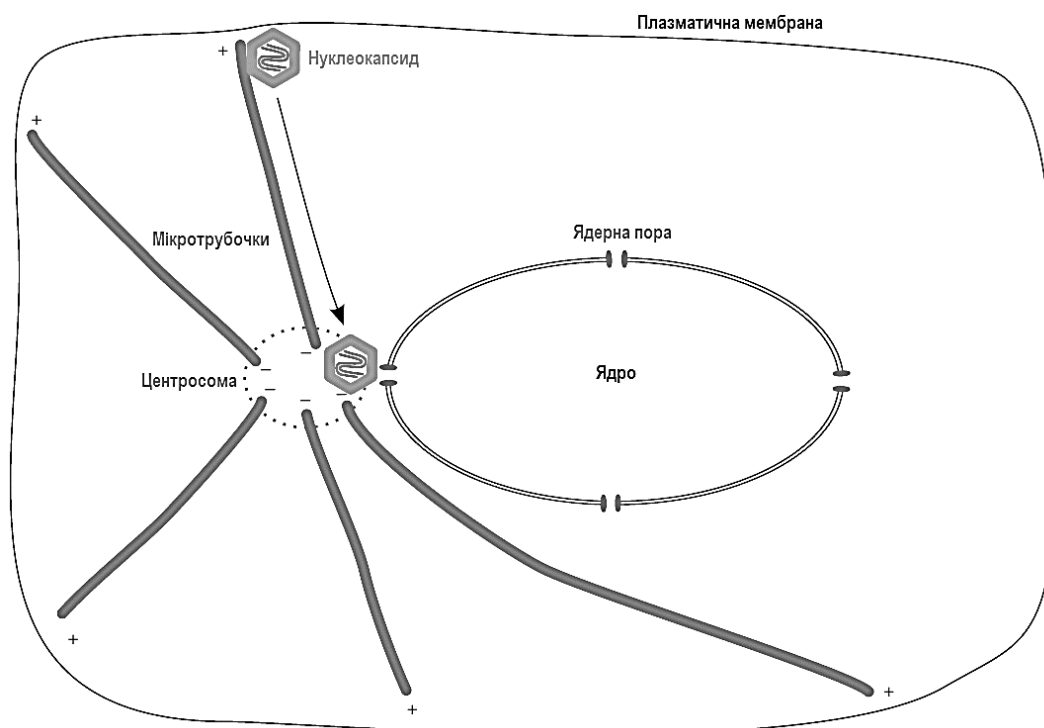
**Віруси тварин: внутрішньоклітинний транспорт.** Після потрапляння до клітини, багато нуклеокапсидів вірусів або, принаймні, їх геноми мають бути доставлені в конкретне місце усередині клітини. Реплікація більшості РНК-геномних вірусів еукаріотів здійснюється в цитоплазмі, оскільки їх геноми кодують усі необхідні ферменти для реплікації, і у вірусів немає потреби у ферментах ядра клітини-хазяїна. Виключенням є вірус грипу (родина Orthomyxoviridae), якому потрібні клітинні механізми сплайсингу. Тому геном вірусу грипу має бути доставлений в ядро.

Ретровіруси теж є РНК-вірусами, реплікація геномів яких відбувається в ядрі. У цитоплазмі їх РНК-геном копіюється у форму ДНК, і більшість ретровірусів чекають в цитоплазмі настання мітозу. Впродовж мітозу ядерна оболонка тимчасово руйнується і вірусна ДНК з асоційованими білками може потрапити в ядерний компартмент. Таким чином, ці віруси можуть реплікуватися тільки в клітинах, що діляться. Проте у низки ретровірусів їх ДНК з асоційованими білками

може транспортуватися в інтактні ядра. Завдяки цьому такі віруси (до яких належить ВІЛ) можуть реплікуватися і в клітинах, що не діляться.

Деякі віруси з ДНК-геномами, наприклад іридовіруси (родина Iridoviridae) і поксвіруси (родина Poxviridae), реплікуються в цитоплазмі клітин еукаріотів, проте більшість ДНК-геномних вірусів реплікуються в ядрі. У цих вірусів, як і вірусів грипу і ретровірусів, геноми повинні транспортуватися до ядерної оболонки і потім перетнути її. Для транспортування, структурні білки цих вірусів мають послідовності, що дозволяють їм зв'язуватися з мікротрубочками.

Мікротрубочки є компонентом цитоскелета, який може використовуватися у вигляді напрямної для переміщення внутрішньоклітинних складників, таких як органели, в певні ділянки клітини. Кінці мікротрубочок означають як плюс і мінус. У більшості клітин тварин плюс-кінці розташовані біля плазматичної мембрани, тоді як мінус-кінці прикріплені до структури, яку називають центросомою, або центром організації мікротрубочок, і яка розташована біля ядра клітини (Мал. 4.6). Мікротрубочки є порожнистими циліндрами, 25 нм діаметром, і складаються з білків  $\alpha$ - і  $\beta$ -тубуліна.



**Мал. 4.6.** Транспорт нуклеокапсиду уздовж мікротрубочок. Нуклеокапсид транспортується від плюс кінця мікротрубочки, розташованого біля плазматичної мембрани, до центросоми, яка розташована поблизу від ядра (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Уздовж мікротрубочок можуть переміщатися клітинні білки, що називаються моторними білками (дінеїни, кінезини, актин та ін.). Ці моторні білки можуть не лише переміщатися самі по собі, але і здатні переміщати асоційований з ними вантаж. Таку систему внутрішньоклітинного транспорту експлуатує ціла низка

вірусів (до числа яких належать герпесвіруси, аденовіруси, парвовіруси і ретровіруси) для доставки нуклеокапсидів або похідних від нуклеокапсидів структур від периферії цитоплазми до ядра. Вірусні структури транспортуються із швидкістю 1–4 мкм в секунду.

Оболонка ядра складається з двох мембран (зовнішньої і внутрішньої). Ядерна оболонка пронизана порами, в яких зовнішня і внутрішня мембрана переходять одна в іншу. На ядрі типової зростаючої клітини є від 3000 до 5000 пір. Ядерні пори діють як воротарі, контролюючи транспорт матеріалів в/з ядра.

Кожна ядерна пора складається з комплексу, який формують більш ніж 50 видів білків, які контролюють переміщення матеріалів через пору. У центрі пори є канал, через який можуть дифундувати невеликі молекули, проте більшість молекул і часток проходять через пору за посередництва спеціальних білків (імпортинів і експортинів). Через канал пори можуть проходити частки до 25 нм діаметром. Невеликі нуклеокапсиди/віріони, подібні до віріонів парвовірусів, можуть проходити через пору повністю, проте віруси з більшими віріонами повинні частково або повністю позбутися капсиду біля ядерної пори.

Незалежно від природи вірусної частки, геном вірусу потрапляє в цитоплазму зазвичай у вигляді нуклеопротейнової структури, часто із залишковими компонентами білків капсиду, а не у вигляді голої нуклеїнової кислоти. Вірусні білки, що асоціюються з геномом, включають ферменти синтезу нуклеїнових кислот і внутрішні структурні білки, що утворюють ядро (кор) складно влаштованих віріонів. Таким чином, після попадання в клітину у деяких вірусів може відбуватися вторинне роздягання (декапсидація) вірусного нуклеокапсиду усередині клітини, впродовж якого деякі вірусні білки віддаляються або перебудовуються.

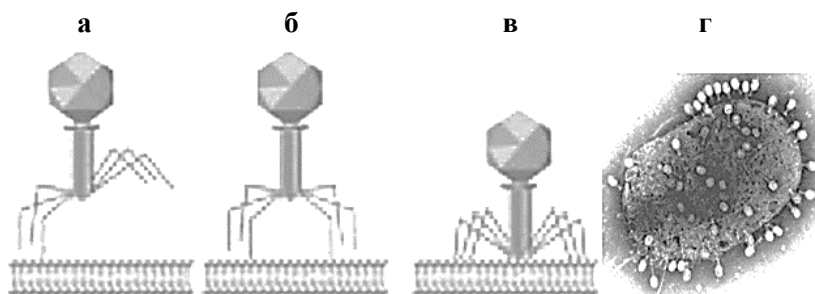
Роздягання вірусу можна визначити як повне або часткове видалення капсиду з вивільненням генома вірусу. Залежно від виду вірусів, цей процес може відбуватися:

- на поверхні клітини; капсид залишається на зовнішній поверхні клітини;
- у ендосомі;
- у цитоплазмі;
- біля ядерної пори;
- усередині ядра.

**Віруси тварин: ефективність інфекційного процесу.** Одним з вражаючих аспектів зараження клітин тварин вірусами є вкрай низька ефективність цього процесу. Внутрішньоклітинні захисні системи, наприклад ферменти лізосом, можуть інактивувати вірус до або після проникнення. Наприклад, під час зараження поліовірусами (родина *Picornaviridae*) основна частина РНК вірусу руйнується після початку взаємодії вірусу з клітинами. Це відбувається з кількох причин, до числа яких входить невдача у взаємодії вірусу з клітиною, що не дозволяє завершити процес входу вірусу в клітину. Таким чином, замість вивільнення геномної РНК в цитоплазму і її асоціації з рибосомами і далі з білком-репліказою, РНК

вірусу руйнується рибонуклеазами. Подібні невдачі пояснюють, чому відношення загальної кількості вірусних часток до числа часток, що викликали зараження, виявляється біля 1000:1 (тобто в середньому з 1000 часток тільки одна успішно заражає клітину). Ні електронна мікроскопія, ні біохімічні дослідження не виявляють відмінностей між вірусними частками, які не викликають зараження і викликають зараження. Більшість вірусних часток, які не спричиняють зараження, містять повний вірусний геном. Ймовірно, більшість цих «не інфекційних» вірусних часток є потенційно цілком інфекційними. Ймовірно, невдача в повному здійсненні інфекційного процесу для більшості вірусних часток є справою випадку.

**Бактеріофаги: прикріплення.** Аналогічно до вірусів тварин, бактеріофаги специфічно прикріплюються до молекул поверхні клітин бактерій, які грають роль рецепторів і корецепторів. Для багатьох фагів рецептори розташовуються на поверхні клітинної стінки хазяїна. Найкраще вивченими прикладами є прикріплення фагів T2 і T4 (родина Myoviridae). Віріони цих вірусів є складними структурами, що включають хвіст, базальну пластинку, шпильки і фібрили хвоста. Початкове прикріплення цих фагів до рецепторів на поверхні бактерій здійснюється дистальними кінцями довгих фібрил хвостового відростка (Мал. 4.7). Далі ці фібрили згинаються в центрі, частка фага наближається до клітинної стінки бактерії, і встановлюється контакт між клітинною стінкою і короткими шпильками на базальній пластинці фага.

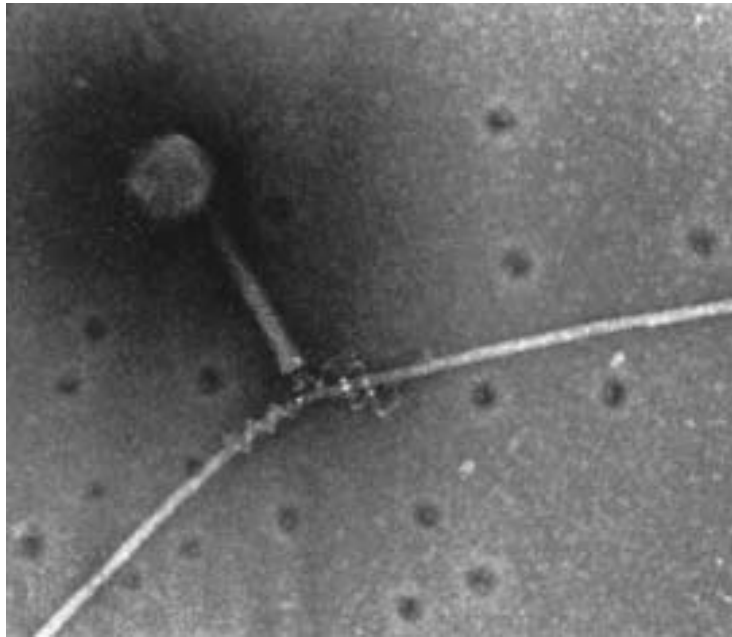


**Мал. 4.7.** Етапи прикріплення бактеріофага T4 до клітинної стінки бактерії (а-в) і електронна мікрофотографія *Escherichia coli* з фагами, що прикріпилися (г).

Не усі фаги прикріплюються до клітинної стінки, деякі фаги можуть прикріплюватися до інших структур (пілі, джгутики або капсули). Наприклад, фаг  $\chi$  (родина Siphoviridae) прикріплюється до джгутика (Мал. 4.8). Кінчик хвоста цього фага має вирости, які обгортаються навколо джгутика. Далі фаг ковзає по джгутику, поки не досягає клітини.

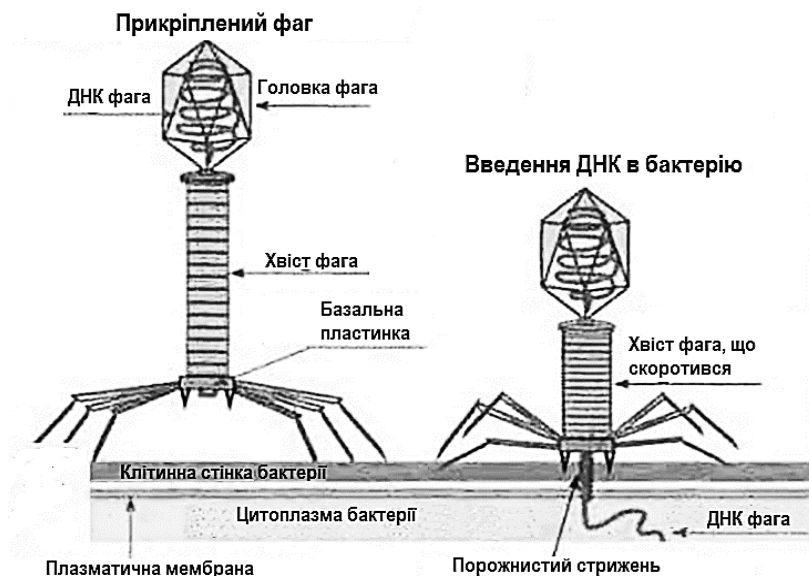
**Вхід геномів бактеріофагів, що мають голівку і хвіст.** Хвостовий відросток деяких бактеріофагів, наприклад T2 і T4 (родина Myoviridae), може скорочуватися. Він складається з 24 кілець, що оточують стрижень. Ці кільця утворюють чохол навколо стрижня. Кожне кільце складається з декількох великих і малих субодиниць.





**Мал. 4.8.** Електронна мікрофотографія фага  $\chi$ , що прикріпився до джгутика бактерії.

Після прикріплення до поверхні бактерії, хвіст скорочується, завдяки об'єднанню великих і малих субодиниць, так що залишається тільки 12 кілець. Порожнистий стрижень усередині хвостового відростка не може скорочуватися, і він проходить через зовнішні шари бактерії хвилеподібними рухами. Цей процес, ймовірно, полегшується ферментом-лізоцимом, який асоційований з хвостом фага. Далі стискання голівки призводить до уприскування ДНК фага в клітину бактерії. З чохла фага пов'язані 144 молекули АТФ, і ймовірно їх гідроліз до АДФ забезпечує енергію для скорочення чохла хвостового відростка. Спосіб введення ДНК в клітину у фагів цього типу часто порівнюють з введенням ліків за допомогою шприца (Мал. 4.9).



**Мал. 4.9.** Вхід генома бактеріофага T2 в клітину бактерії.

У бактеріофагів, які мають хвіст що не скорочується (наприклад, фаг T1, родина Siphoviridae), після прикріплення до бактерії отвір для входу в клітину генома утворюється, ймовірно, за рахунок дії ферментів.

**Вхід генома інших бактеріофагів.** Більшість бактеріофагів не мають скорочувального чохла, і спосіб, яким їх нуклеїнова кислота проникає в клітину, залишається не зовсім зрозумілим. Для нитчастих ДНК-геномних бактеріофагів, які прикріплюються до пілю, передбачається, що ДНК і білок оболонки входять в клітину бактерії і постулюється, що після прикріплення фага комплекс фаг-піль втягується в клітину бактерії. Проте для РНК-геномних фагів, які також прикріплюються до пілю, вхід білка оболонки в клітину показаний не був. Ці фаги у складі оболонки мають молекулу так званого А-білка, який упізнає рецептори на поверхні бактерії і служить для прикріплення. З'ясовано, що в клітину бактерії у випадку успішної інфекції потрапляють РНК фага і А-білок.

**Зараження рослин.** Клітинна стінка, що оточує плазматичну мембрану рослинної клітини, запобігає прикріпленню і входу вірусів в клітину способами, аналогічними для вірусів тварин, а склад клітинної стінки рослин занадто складний для того, щоби віруси кодували відносно невеликі ферменти, які б могли утворювати в ній отвори, як роблять деякі бактеріофаги. Тому віруси здатні потрапити в цитоплазму рослинної клітини, тільки якщо рослинні тканини пошкоджені. З цієї причини рослини заражаються або за допомогою переносників, або через механічні ушкодження, викликані вітром або іншими причинами. Переносниками вірусів рослин можуть бути попелюхи, що живляться на рослинах, трипси, цикадки, кліщі, нематоди, фітопатогенні протисти та гриби. Коло рослин, що вражаються вірусом, зазвичай визначається видами рослин, на яких може житися переносник.

Потрапивши в клітину рослини, вірусна частка в цитоплазмі роздягається, завдяки зв'язуванню білків капсиду з білками цитоплазми рослинної клітини; на цей процес впливають також двовалентні катіони типу іонів кальцію. Вивільнений геном вірусу або цілі віріони переміщаються в рослині з клітини в клітину через плазмодесми, забезпечуючи поширення інфекції по рослині. Важливою особливістю фітопатогенних вірусів є кодування вірусами так званих *транспортних білків*, які сприяють переміщенню вірусних геномів в прилеглі клітини і є консервативними. На значні відстані в рослині віруси поширюються флоремою.

#### 4.3. Експресія генів вірусів

Після успішного зараження в клітині з'являються білки, що кодуються геномом вірусів. Інакше кажучи, починається експресія генів вірусів. Експресія генів – це процес, в ході якого спадкова інформація, представлена в геномі у вигляді послідовності нуклеотидів, перетворюється у функціональний продукт – білок або РНК. У вірусів експресія генів відбувається за участю компонентів клітини-

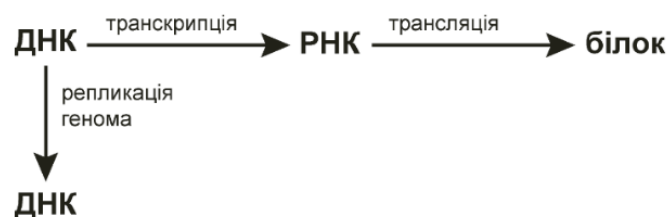
хазяїна і багато в чому схожа з процесами, які відбуваються в клітинах в нормальних умовах. Надалі здійснюється процес реплікації геномів вірусів, тобто утворення множинних копій вірусних геномів, які будуть упаковані у нові вірусні частки.

**Центральна догма молекулярної біології і її модифікації.** У 1958 р. Френсіс Крик запропонував «центральну догму молекулярної біології», відповідно до якої для усіх без виключення живих організмів генетична інформація передається від ДНК до РНК і від РНК до молекули білка, а між поколіннями генетична інформація переноситься копіюванням ДНК (Мал. 4.10А).

Проте поглиблене розуміння особливостей реплікації різних типів вірусів викликало внесення змін до центральної догми – виявилось, що багато вірусів мають в геномах РНК, яка копіюється на РНК, і у деяких вірусів генетична інформація переноситься з РНК на ДНК (Мал. 4.10Б).

Експресія генів може регулюватися на всіх стадіях процесу: під час транскрипції, після транскрипції (сайленсинг мРНК), під час трансляції, і на стадії посттрансляційних модифікацій білків.

#### А. Центральна догма

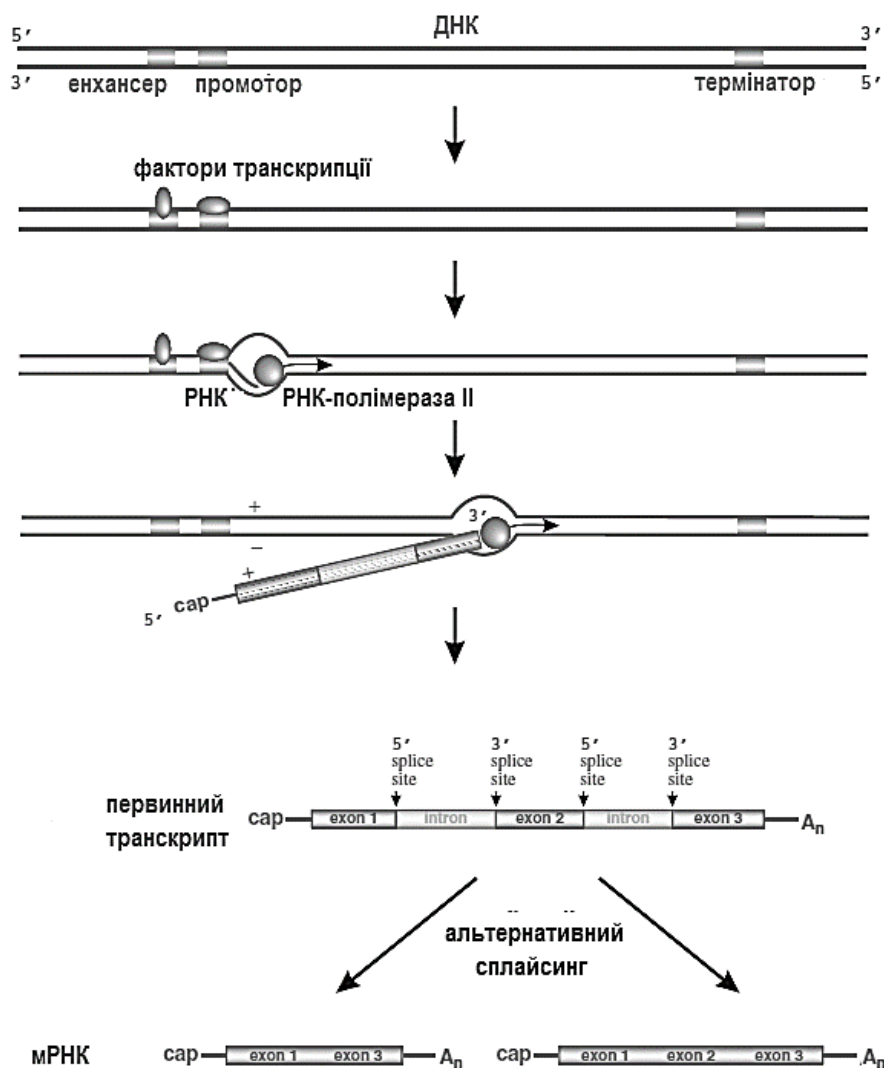


#### Б. Модифікована центральна догма



**Мал. 4.10.** (А) Центральна догма молекулярної біології, запропонована Ф. Криком, відповідно до якої генетична інформація переноситься від ДНК на РНК і на білок і від ДНК до ДНК. (Б) Модифікації центральної догми, які виявилися необхідними внаслідок різних способів транскрипції і реплікації геномів у вірусів.

**Транскрипція у вірусів, які мають ДНК-геноми, і провірусної ДНК ретровірусів в еукаріотичній клітині.** Транскрипція є процесом синтезу РНК на матриці дволанцюгової ДНК за участі ДНК-залежних РНК-полімераз. Транскрипція у еукаріот контролюється декількома специфічними послідовностями нуклеотидів ДНК, до числа яких входять енхансери, промотори і термінатори. Схематично процес транскрипції показаний на Мал. 4.11.



**Мал. 4.11.** Схематичне зображення процесу транскрипції (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).  
Пояснення в тексті.

**Енхансери** – послідовності, які містять ділянки зв'язування для *факторів транскрипції*, які впливають на інтенсивність транскрипції.

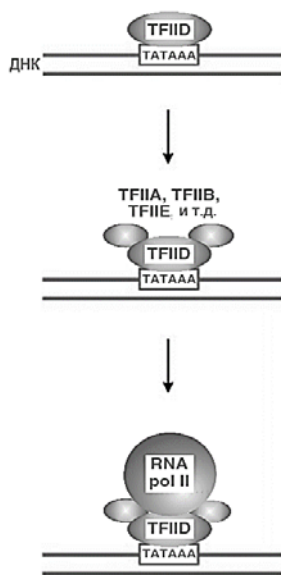
**Промотори** – зазвичай передуючі гену послідовності нуклеотидів, які розпізнає фермент РНК-полімераза; «вмикачі» транскрипції. Основний елемент промотору – сайт зв'язування РНК-полімерази, яке вона займає перед початком синтезу РНК. До складу промоторів можуть входити також ділянки зв'язування білків-регуляторів.

**Термінатори** – послідовності, які примушують фермент припинити транскрипцію.

У промоторах багатьох генів еукаріотів і вірусів є консенсусні послідовності<sup>1</sup> нуклеотидів ТАТА(А/Т)А(А/Г). Ці послідовності відомі як ТАТА-бокси і зазвичай розташовані за 25–30 пар нуклеотидів від ділянки початку транскрипції. Хоча, окрім ТАТА-боксів, є й інші консенсусні послідовності для зв'язування факторів транскрипції.

Енхансери містять послідовності, які зв'язують фактори транскрипції, і ця взаємодія може інтенсифікувати процес транскрипції. Знаменно, що деякі енхансери можуть знаходитися на відстані до 1 млн. пар нуклеотидів перед промотором; таким чином, зближення енхансера з відповідним промотором досягається згортанням ДНК. Послідовності багатьох енхансерів специфічні для типу клітин.

Фактори транскрипції є білками, які специфічно зв'язуються з послідовностями промоторів і енхансерів, контролюючи експресію гена. Деякі фактори транскрипції клітин, які називають загальними факторами транскрипції, беруть участь в контролі експресії генів у багатьох типів клітин. Прикладом такого фактору є IID (TFIID), який зв'язується з ТАТА-боксом. TFIID є комплексом, що складається з 13 поліпептидів, один з яких є білком, що зв'язує ТАТА-бокс. Після зв'язування TFIID з ТАТА-боксом, відбувається зв'язування інших факторів транскрипції (TFIIA, TFIIB, TFIIE, TFIIF і TFIIH), а також РНК-полімерази II (Мал. 4.12).



**Мал. 4.12.** Зв'язування факторів транскрипції і РНК-полімерази II з ТАТА-боксом тексті (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

До клітинних факторів транскрипції, які зв'язуються з енхансерами, належать зокрема такі:

- AP-1 і AP-2 (activator proteins 1 and 2)

<sup>1</sup> Консенсусна послідовність (consensus sequence) [лат. consensus – згода, однаковість] – усереднена послідовність нуклеотидів або амінокислот, що регулярно зустрічається (з невеликими варіаціями по окремих нуклеотидах або амінокислотах) в конкретному елементі (напр., в промоторі) у різних генів або у різних білків.

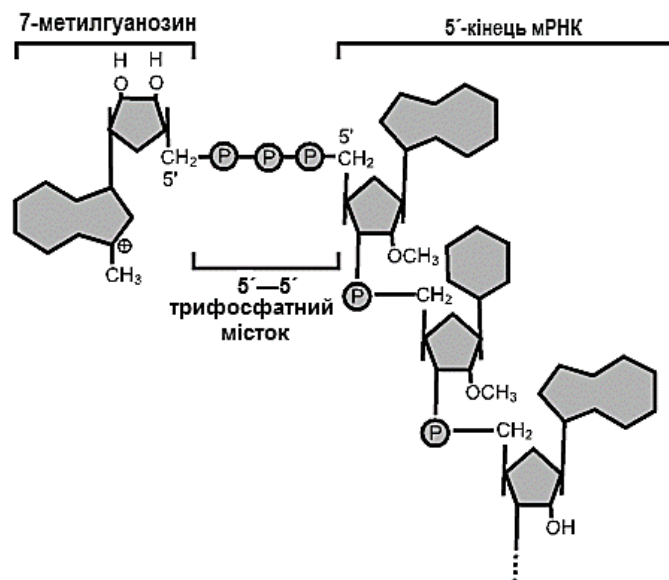
- Sp1 (stimulatory protein 1)
- NF-κB (nuclear factor κB).

Фактори транскрипції можуть як активувати, так і пригнічувати експресію генів. Усі живі організми регулюють експресію своїх генів.

**Транскриптази.** Транскрипція здійснюється ферментами, які носять загальну назву транскриптази. Віруси, реплікація яких відбувається в ядрі, зазвичай використовують ферменти клітини-хазяїна, тоді як віруси, які реплікуються у цитоплазмі, кодують свої власні ферменти.

Для транскрипції ДНК-геномних вірусів потрібний фермент – ДНК-залежна РНК-полімераза. Такі віруси, транскрипція яких виконується в ядрі, в загальному випадку використовують РНК-полімеразу II клітини. Цей же фермент здійснює і транскрипцію у РНК-геномних ретровірусів, у яких транскрипція здійснюється на ДНК-копії геномної РНК. ДНК-геномні віруси, реплікація яких відбувається в цитоплазмі, кодують свою власну ДНК-залежну РНК-полімеразу, оскільки в цитоплазмі клітин немає відповідного ферменту.

**Кепування і поліаденілювання.** Незабаром після початку синтезу РНК, ще до завершення транскрипції, більшість транскриптів зазнають так зване кепування на 5'-кінці. Кеп є 7-метилгуанозинтрифосфатом, приєднаним до кінцевого нуклеотиду мРНК 5'–5' зв'язком (але не звичайним для зв'язування нуклеотидів 5'–3' зв'язком, Мал. 4.13).



Мал. 4.13. Кеп на 5'-кінці мРНК.

В певних випадках, окрім приєднання кепу, метильна група приєднується також до залишків рибози першого і другого нуклеотидів. Більшість матричних РНК еукаріотичних клітин мають кеп на 5'-кінці. Кеп, як вважають, виконує наступні функції:

- допомагає транспорту мРНК з ядра в цитоплазму;

- захищає мРНК від руйнування екзонуклеазами;
- потрібен для ініціації трансляції.

Ферменти клітини, які виконують кепування, є гуанилтрансферазами (приєднують гуанозинтрифосфат) і метилтрансферазами (приєднують метильну групу). У клітині ці ферменти локалізовані в ядрі.

Після завершення транскрипції, до 3'-кінця більшості первинних транскриптів еукаріотів і їх вірусів додається ряд залишків аденозину, так званий поліаденіловий (полі(А)) хвіст. Поліаденілювання ймовірно збільшує стабільність мРНК, і полі(А) хвіст грає роль в ініціації трансляції.

Сигнал поліаденілювання у більшості випадків розташований за 10-30 нуклеотидів до сайту поліаденілювання. Сигнал поліаденілювання ААТААА уперше був виявлений у вірусу SV40 (родина Polyomaviridae) в 1981 р., і як далі було встановлено, його використовують як багато вірусів еукаріотів, так і самі еукаріотичні клітини. Деякі віруси використовують інші послідовності, наприклад у гепаднавірусів ссавців сигналом поліаденілювання служить ТАТААА, послідовність, яка є ТАТА-боксом в іншому контексті!

У більшості випадків полі(А) хвіст додається таким чином. Впродовж транскрипції РНК-полімераза, переміщаючись по матриці, проходить через сигнал поліаденілювання і сайт поліаденілювання і досягає термінатора. Потім наново синтезована РНК розщеплюється в сайті поліаденілювання, і полі(А) хвіст додається крок за кроком комплексом білків, до якого входить полі(А)полімераза.

**Сплайсинг транскриптів.** У результаті транскрипції синтезуються так звані первинні транскрипти. Деякі з них є функціональними мРНК, проте більшість первинних транскриптів еукаріотичних клітин містять послідовності (інтрони), які вилучаються. Послідовності (екзони), що залишилися, з'єднуються в специфічних донорних і акцепторних сайтах, утворюючи функціональну мРНК (Мал. 4.11). У деяких випадках первинний транскрипт може бути розрізаним і з'єднаним більш ніж одним способом, що призводить до формування двох або більше видів мРНК підчас транскрипції єдиного гена (альтернативний сплайсинг). Гени, які містять екзони та інтрони, називають «розщепленими генами».

Первинні транскрипти вірусів, реплікація яких відбувається в ядрі, так само можуть зазнавати сплайсинг протягом утворення вірусних мРНК. Власне кажучи, перший доказ існування розщеплених генів був отриманий в 1977 р. саме підчас вивченні вірусів. Альтернативний сплайсинг означає, що єдиний ген може кодувати більше за один вид білка. Це у край важливо для вірусів, оскільки збільшує інформаційну місткість генома без збільшення його розміру.

Існування розщеплених генів показане зокрема для аденовірусів, герпесвірусів, парвовірусів і ретровірусів. У простому випадку розщеплений ген складається з двох екзонів, розділених одним інтроном. Проте часто структури вірусів генів значно складніші. Наприклад, ген *K15* асоційованого з саркомою Капоші вірусу герпесу (родина Herpesviridae) має вісім екзонів і сім інтронів. Геном ВІЛ-

1 (родина Retroviridae) має низку донорних і акцепторних сайтів сплайсингу; в результаті сплайсингу первинного транскрипту утворюється більше 30 різних мРНК.

**Транскрипція у вірусів, які мають РНК-геноми (крім ретровірусів).** У вірусів, геноми яких являють собою РНК, транскрипцією є синтез РНК на матриці РНК<sup>1</sup>. Тут є дві важливі обставини, які слід взяти до уваги. РНК-геномні віруси синтезують мРНК на матриці, яка має негативний сенс (тобто на ланцюзі (–)РНК). Віруси класу III по Д. Балтімору використовують (–) ланцюг свого дволанцюгового генома. Віруси класу IV на своєму (+)РНК-геномі мають спочатку утворити шляхом реплікації проміжну форму у вигляді (–)РНК, яка надалі буде правити за матрицю для транскрипції. Нарешті, віруси класу V можуть безпосередньо використовувати свій (–)РНК-геном у якості матриці для транскрипції.

Друга обставина пов'язана з відсутністю у клітини-господаря відповідного ферменту. У загальному випадку, синтез РНК на матриці РНК не є типовим явищем для живих організмів. І хоча рослини і деякі інші еукаріоти мають РНК-залежну РНК-полімеразу, віруси в циклі реплікації цей фермент господаря не використовують. Замість цього кожен вірус класів III, IV і V за системою Д. Балтімора кодує власну РНК-залежну РНК-полімеразу.

У вірусів з РНК-геномами цей фермент обов'язково входить до складу віріонів (тобто є структурним білком). Завдяки цьому після зараження клітини РНК-залежна РНК-полімераза відразу ж може почати синтез мРНК. Виняток становлять віруси, які мають геноми у вигляді (+)РНК (клас IV за системою Д. Балтімора). Такі геноми фактично є матричними РНК, і відразу ж після зараження клітини вони транлюються. Перший же білок, який синтезується, і являє собою РНК-залежну РНК-полімеразу, яка надалі здійснює транскрипцію. Тому у вірусів з геномами (+)РНК цей фермент є неструктурним білком – для вірусу немає потреби доставляти його в клітину під час зараження.

Треба зазначити, що протягом транскрипції, тобто під час синтезу мРНК на матриці (–)РНК, цей фермент буде «транскриптазою». Але за умови реплікації РНК-геномів (див. далі) синтез РНК на матриці РНК є реплікацією, і відповідно РНК-залежна РНК-полімераза буде «репліказою». У кожного з РНК-геномних вірусів транскрипція і реплікація здійснюється тим самим ферментом, і яким чином перемикаються ці активності, не зовсім зрозуміло, хоча фермент може бути модифікованим різними шляхами для виконання функції у двох різних процесах.

Оскільки нема потреби в ферментах клітини-господаря, у більшості РНК-геномних вірусів транскрипція і трансляція відбуваються в цитоплазмі клітини.

---

<sup>1</sup> Деякі спеціалісти вважають невірним використання терміну «транскрипція» щодо синтезу мРНК на матриці РНК, оскільки вважають, що транскрипція це виключно процес синтезу РНК на матриці ДНК. Але ми будемо використовувати термін «транскрипція» як синтез мРНК на геномній нуклеїновій кислоті, не зважаючи на те, чи геном є ДНК, чи геном є РНК.



Але деякі РНК-геномні віруси реплікуються у ядрі. Наприклад, віруси грипу (родина Orthomyxoviridae) мають потребу у клітинній машинерії сплайсингу мРНК, яка локалізована в ядрі. Тому транскрипція у цих вірусів також відбувається у ядрі.

Як було зазначено вище, зазвичай мРНК еукаріотів має кеп і поліаденіловий хвіст. Але багато РНК-геномних вірусів утворюють мРНК, яка або не є кепованою, або не має полі(А) хвоста, або обох цих структур. У нормі ці структури, особливо кеп, критично важливі для ініціації трансляції. Для вирішення цієї проблеми РНК-геномні віруси виробили різні стратегії. Наприклад, віруси, що мають сегментовані геноми з мінус-ланцюгом РНК, виробили механізм «зриву шапок» з клітинних мРНК. До таких вірусів входять вірус грипу (родина Orthomyxoviridae) і вірус плямистого в'янення томатів (родина Tospoviridae). Комплекс білків вірусів, що являє собою РНК-полімеразу, зв'язується з кепованими мРНК клітини. Цей комплекс має ендонуклеазну активність, і клітинна мРНК розрізається на відстані 10-20 нуклеотидів від кепованого 5'-кінця. Кепований олігонуклеотид, що утворився, служить праймером для ініціації транскрипції вірусної РНК.

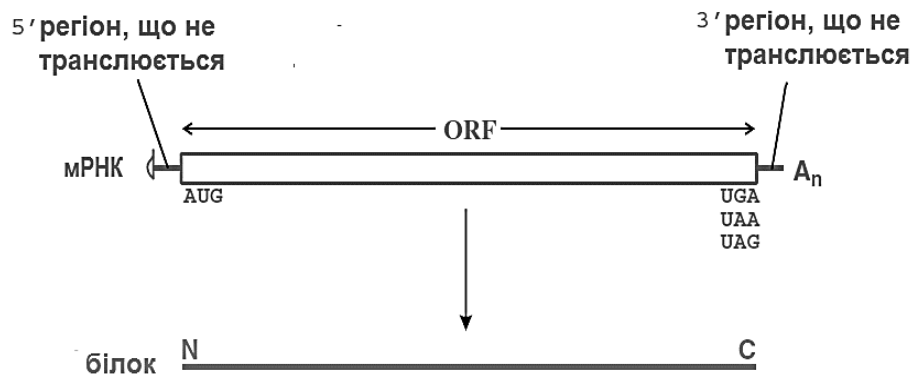
Іншу стратегію використовують, наприклад, пікорнавіруси: трансляція у цих вірусів ініціюється незалежним від кепу механізмом (див. далі).

**Трансляція у еукаріотів.** Типова мРНК еукаріотів є моноцистронною, тобто має одну так звану відкриту рамку зчитування (**open reading frame, ORF<sup>1</sup>**), з якої відбувається трансляція (біосинтез) білка. Послідовності нуклеотидів вище і нижче ORF не транскрибуються (Мал. 4.14). Деякі великі ORF кодують поліпротеїни, великі білки, які розщеплюються протеазами з утворенням двох або більше функціональних білків.

**Ініціація трансляції** Як було обговорено раніше, більшість мРНК еукаріотичних клітин і їх вірусів мають метилований нуклеотидний кеп на 5'-кінці і полі(А) послідовність на 3'-кінці. Ці структури грають ключову роль в ініціації трансляції.

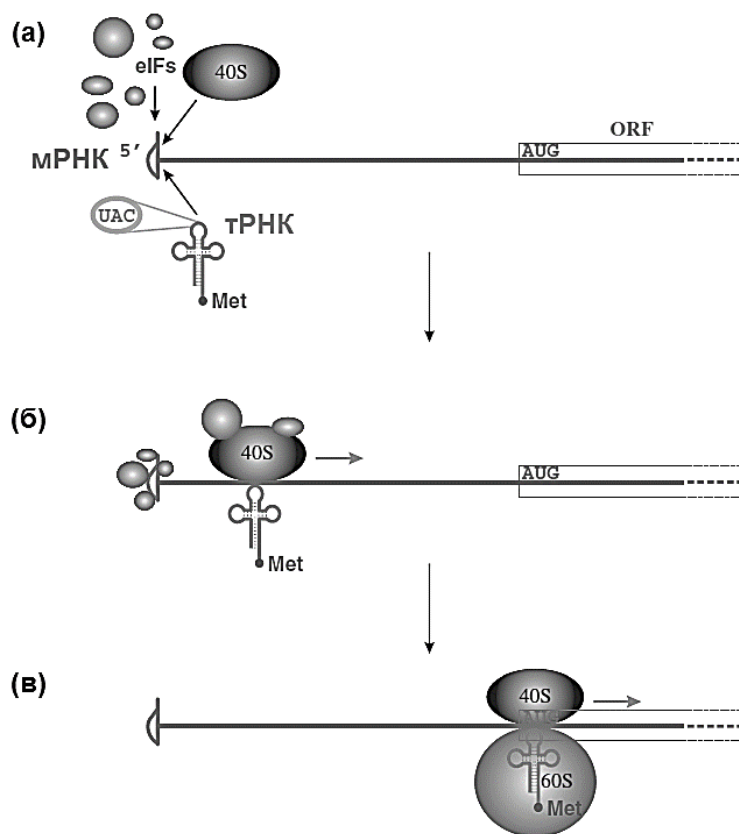
---

<sup>1</sup> Відкрита рамка зчитування – послідовність нуклеотидів у складі ДНК або РНК, потенційно здатна кодувати білок. Основним параметром наявності ORF служить відсутність стоп-кодонів на досить тривалій ділянці послідовності після стартового кодону (загалом, оскільки амінокислоти кодуються триплетом нуклеотидів, на кожній ділянці нуклеїнової кислоти можливі три рамки зчитування, але часто дві з них закриті стоп-кодонами, тобто є закритими рамками зчитування). Наявність ORF є необхідною, але не достатньою умовою для твердження про присутність на цій ділянці ДНК гена, що кодує поліпептид. Для ефективної транскрипції і трансляції потрібна, крім того, ціла низка регуляторних елементів, в першу чергу – промоторів і можливо енхансерів.



**Мал. 4.14.** Трансляція моноцистронної мРНК. Існує одна відкрита рамка зчитування (ORF), яка зазвичай розпочинається з першого (стартового) кодону AUG на 5'-кінці мРНК і закінчується стоп-кодоном (UGA, UAA або UAG). Трансляція відбувається у напрямі 5'→3', і N-кінець білка синтезується першим. Кеп зображений на 5'-кінці у вигляді кепі (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Особливо важливим є кеп; він є сайтом зв'язування для факторів ініціації еукаріотів (eukaryotic initiation factors, eIFs) (Мал. 4.15).



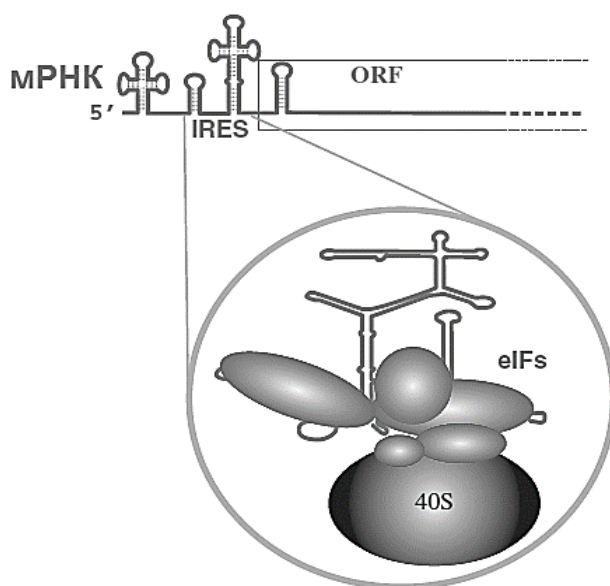
**Мал. 4.15.** Ініціація трансляції мРНК, яка має кеп. (а) Фактори ініціації еукаріотів (eIFs), 40S субодиниця рибосоми і метіонін (Met), зв'язаний зі своєю тРНК, прикріплюються біля 5'-кінця мРНК. (б) Комплекс сканує мРНК у напрямку 3'-кінця. (в) Коли досягається перший кодон AUG, він розпізнається антикодоном UAC метионінової тРНК, прикріплюється 60S субодиниця рибосоми, фактори ініціації вивільняються (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Після зв'язування цих факторів, ініціаторна метионінова тРНК зв'язується зі своєю амінокислотою і 40S-субодиницею рибосоми. З полі(А) послідовністю на

3'-кінці мРНК зв'язуються специфічні для цієї послідовності білки. Білки, які зв'язуються з двома кінцями мРНК, здатні взаємодіяти один з одним, і ця взаємодія приводить до замикання мРНК в кільце, що у свою чергу призводить до стимуляції трансляції. Матричні РНК, у яких відсутній кеп або полі(А) хвіст, повинні замикатися в кільце з використанням інших механізмів.

40S субодиниця рибосоми переміщується вздовж мРНК від 5'- до 3'-кінця, скануючи мРНК, поки не зустрине перший ініціаторний (стартовий) кодон. Найчастіше це кодон AUG, найближчий до 5'-кінця. Метионінова тРНК є ініціаторною, оскільки саме з її допомогою, за рахунок кодон-антикодонової взаємодії, весь комплекс знаходить стартовий AUG-кодон. Як тільки такий кодон знайдений, до малої субодиниці приєднується велика 60S субодиниця, тобто збирається повна 80S рибосома, і починається синтез поліпептидного ланцюга. Зрозуміло, що першою амінокислотою, з якої починається молекула білка, буде метіонін.

Деякі мРНК не мають кепи, тож ініціація трансляції відбувається в них інакше. Скорочений набір eIFs зв'язується не з 5'-кінцем, а з так званим внутрішнім сайтом входження рибосоми (internal ribosome entry site, IRES), який має складну вторинну структуру (Мал. 4.16). Внутрішні сайти входження рибосоми відомі в низки РНК-геномних вірусів, таких як пікорнавіруси, а також в однієї з мРНК ДНК-геномного асоційованого з саркомою Капоші вірусу герпесу (родина Herpesviridae).



**Мал. 4.16.** Ініціація трансляції мРНК, яка не має кепи. 40S субодиниця рибосоми і eIFs зв'язуються з внутрішнім сайтом входження рибосоми (internal ribosome entry site, IRES), розташованим вище ORF (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

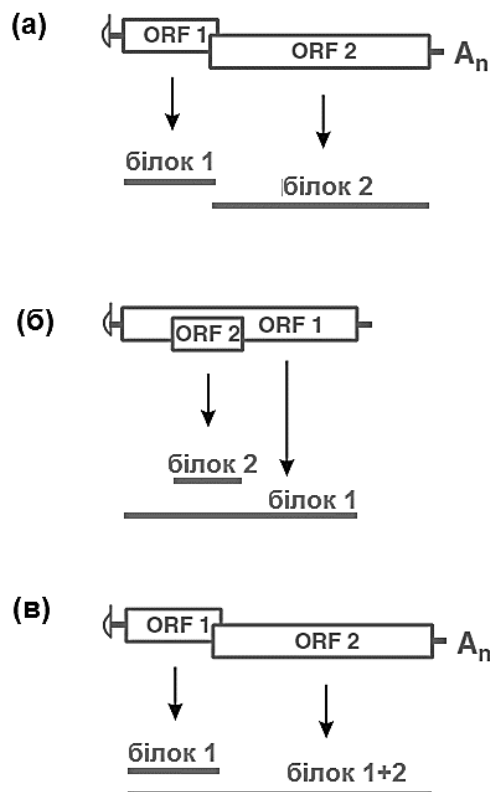
**Трансляція біцистронних мРНК.** Більшість мРНК еукаріотичних клітин і вірусів мають одну відкриту рамку зчитування, але є вірусні мРНК, що мають дві або більше ORF. У багатьох біцистронних мРНК відкриті рамки зчитування перекриваються (Мал. 4.17а); у інших випадках є одна ORF усередині іншої ORF (Мал.

4.17б). Відмінність в інтенсивності трансляції ORF забезпечує механізм експресії генів з різною інтенсивністю.

В усіх цих випадках є фундаментальна проблема протягом користуванні машинерією трансляції еукаріотичних клітин, оскільки у загальному випадку тільки крайній цистрон буде трансльований. Причиною цього є те, що трансляція припиниться після першого ж стоп-кодону, і відкриті рамки зчитування, які розташовані ближче до 3'-кінця мРНК, трансльоватися не будуть.

Для вирішення цієї проблеми є декілька стратегій.

Одним з механізмів читання другої рамки зчитування є «послаблене» сканування; 40S субодиниця рибосоми може пропустити стартовий кодон ORF 1 і ініціювати трансляцію із стартового кодону ORF 2 (Мал. 4.17 а,б).



**Мал. 4.17.** Трансляція біцистронних мРНК. (а), (б) Рибосома може почати трансляцію із стартового кодону ORF 1, або сканування мРНК рибосомою може бути «послабленим», і трансляція може розпочатися зі стартового кодону ORF 2. Два стартові кодони знаходяться в різних рамках зчитування, і два білки не пов'язані. (в) ORF 2 трансльується завдяки зсуву рамки зчитування, що призводить до синтезу збільшеної версії білка 1 (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Іншим механізмом читання другої ORF в мРНК є зсув рамки зчитування рибосоми (фреймшіфт); рибосома зміщується на іншу рамку зчитування у напрямку до кінця ORF 1. Завдяки цьому рибосома не розпізнає стоп-кодон ORF 1 і продовжує переміщатися по мРНК, прочитуючи ORF 2 (Мал. 4.17 в). Зсув рамки зчитування відбувається тоді, коли рибосома, переміщаючись вздовж мРНК, зустрічає сигнал фреймшіфту (специфічну послідовність, «слизьку ділянку»), який супроводжується особливою вторинною структурою.

**До- і посттрансляційні модифікації білків.** Впродовж трансляції і після неї, білки можуть піддаватися одній або декільком модифікаціям, що включають глікозилювання, ацилювання і фосфорилювання.

**Глікозилювання.** Глікозилювання включає приєднання до поліпептидного ланцюга олігоцукрових груп. Коли олігоцукри приєднуються через -ОН групу залишків серину або треоніну, процес називають О-глікозилюванням; коли олігосахариди приєднуються через -NH<sub>2</sub> групу залишку аспарагіну, то це називають N-глікозилюванням.

Білки, які мають бути глікозилювані, синтезуються на шорсткому ендоплазматичному ретикулумі, де починається N-глікозилювання. Далі вони транспортуються до комплексу Гольджі, де N-глікозилювання завершується. О-глікозилювання відбувається в комплексі Гольджі.

Деякі білки піддаються глікозилюванню тільки одного типу, наприклад N-глікозилюваний gp120 ВІЛ-1. Багато вірусних білків зазнають обидва типи глікозилювання, наприклад gC і gD вірусу простого герпесу.

Ці глікозилювані білки ВІЛ-1 і вірусу простого герпесу, як і більшість інших глікозилюваних білків вірусів, є інтегральними мембранними білками, компонентами оболонки віріонів. Проте деякі глікозилювані білки не пов'язані з оболонкою віріона; віріони ротавірусів не мають оболонки, але їх білок поверхні VP7 є глікозилюваним. Деякі глікозилювані білки вірусів є неструктурними, наприклад білок ротавірусів NSP4.

**Ацилювання.** Ацилювання – це додавання ацильної групи (R-CO-) до молекули білка. Ацильною групою, що зазвичай додається до білка, є міристильна група, де R являє собою CH<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>-. Міристильна група приєднується до залишку гліцину на N-кінці білка. Більшість вірусів не кодує білок N-міристилтрансферазу, який здійснює приєднання цієї групи, тож цей процес виконується ферментами хазяїна.

Чимало вірусних білків з міристильними групами пов'язані з мембранами (наприклад білки Gag ретровірусів). Якщо ці білки не будуть міристильовані, вони не зможуть зв'язатися з плазматичною мембраною, і збирання віріонів не відбудеться.

**Фосфорилювання.** Фосфорилювання означає перенесення фосфатної групи з нуклеотиду, зазвичай АТФ, на кисень -ОН групи залишків серину, треоніну або тирозину. Перенесення виконується протеїнкіназами, які можуть бути ферментами хазяїна або кодуватися вірусом.

Фосфорилювання змінює конформацію, активність, локалізацію і/або стабільність білка, і багато процесів в клітині, у тому числі і підчас реплікації вірусів, включають фосфорилювання білків. Багато структурних і неструктурних білків вірусів стають фосфорилюваними, наприклад фосфопротейни рабдовірусів.

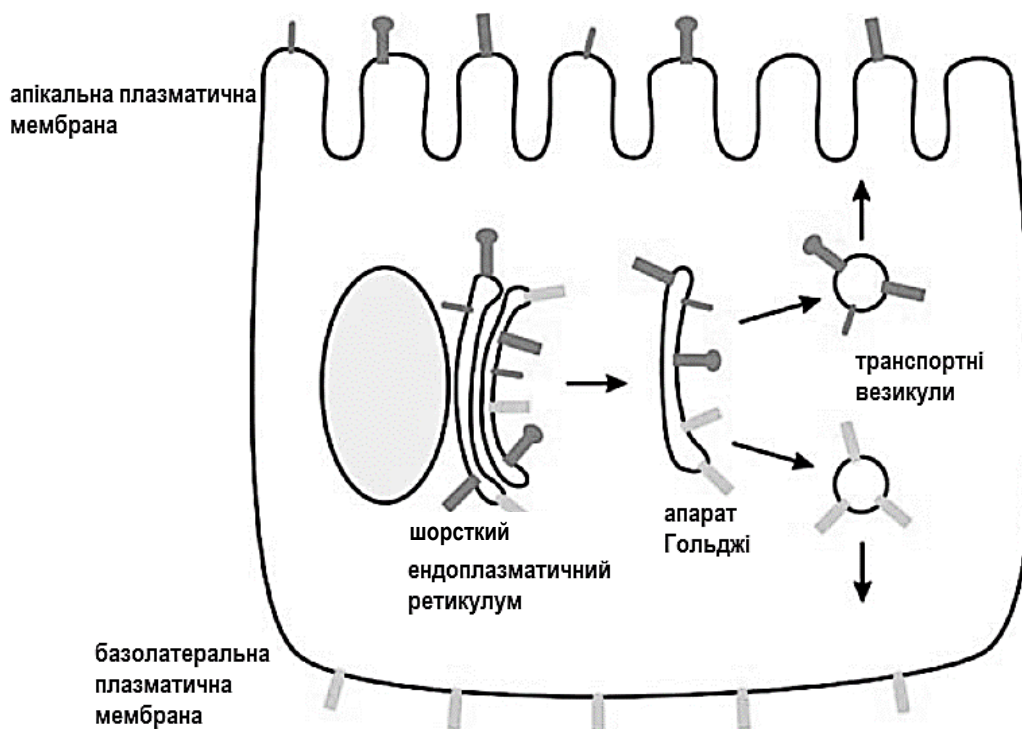
**Транспорт усередині клітин еукаріотів.** Вище, в розділі 4.2, обговорювалося, як нуклеокапсиди та інші вірусні структури транспортуються вдовж мікротрубочок до ядерних пор після входу вірусу в клітину. Проте переміщатися усередині клітини до певних ділянок повинні не лише нуклеокапсиди, але й молекули вірусів, які синтезуються в процесі реплікації. Вірусні мРНК транспортуються з ядра в цитоплазму, а вірусні білки повинні транспортуватися в найрізноманітніші ділянки клітини, включаючи ядро.

Багато білків мають послідовності амінокислот (сигнальні послідовності), які визначають їх місце розташування. Білки, які мають бути включеними в мембрани, мають сигнальну послідовність, представлену серією гідрофобних амінокислотних залишків, або на N-кінці, або усередині білка. Синтез білків починається на вільній рибосомі, але коли синтезується сигнальна послідовність, вона направляє комплекс поліпептид-рибосома до ендоплазматичного ретикулума, де синтез білка триває. Ділянку ендоплазматичного ретикулума, що асоціюється з рибосомами, називають шорстким ендоплазматичним ретикулумом.

Кожен інтегральний мембранний білок має одну або більше послідовностей, збагачених гідрофобними амінокислотними залишками. Багато білків, синтезованих на шорсткому ендоплазматичному ретикулумі, далі транспортуються за участю везикул до апарату Гольджі, і більшість інтегральних мембранних білків гликозилуються в цьому компартменті. З комплексу Гольджі глікопротеїни транспортуються до інших мембран, таких як плазматична мембрана або ядерна оболонка. Дочірні віріони можуть брунькуватися через ці мембрани.

Епітеліальні клітини мають апікальну (зовнішню) і базолатеральну (внутрішню) поверхні, які складаються з ліпідів і білків, що розрізняються, і відокремлені щільними контактами. Протягом зараження епітеліальних клітин вірусами, що мають оболонку, брунькування віріонів може обмежуватися або апікальною поверхнею, або базолатеральною поверхнею.

Е. Родріге-Боулан і Д. Сабатіні виявили в 1978 р., що вірус везикулярного стоматиту (родина *Rhabdoviridae*) брунькується скрізь базолатеральну поверхню, а вірус грипу (родина *Orthomyxoviridae*) брунькується скрізь апікальну поверхню. Це ймовірно пояснює, чому більшість вірусних інфекцій у ссавців локалізована в дихальних шляхах. Вони показали, що глікопротеїни кожного вірусу спрямовуються до відповідної поверхні клітини (Мал. 4.18). Кожен білок має сигнальну послідовність, яка визначає, до якої мембрани клітини він переміщається у складі транспортних везикул.

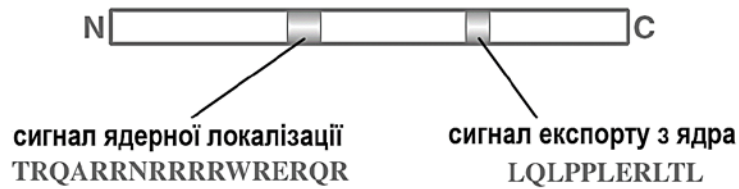


**Мал. 4.18.** Направлення вірусних білків до апікальної і базолатеральної поверхонь епітеліальних клітин. Білки вірусу грипу А (темного кольору) і вірусу везикулярного стоматиту (світлого кольору) транспортуються до апікальної і базолатеральної поверхонь відповідно (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Якщо віруси реплікуються в ядрі, то більшість, якщо не усі, білків вірусу мають бути спрямовані в ядро. Ці білки, як і власні білки клітини, які переміщуються в ядро, мають так званий сигнал ядерної локалізації. Цей сигнал становить специфічну послідовність, збагачену однією або двома основними амінокислотами лізином і аргініном.

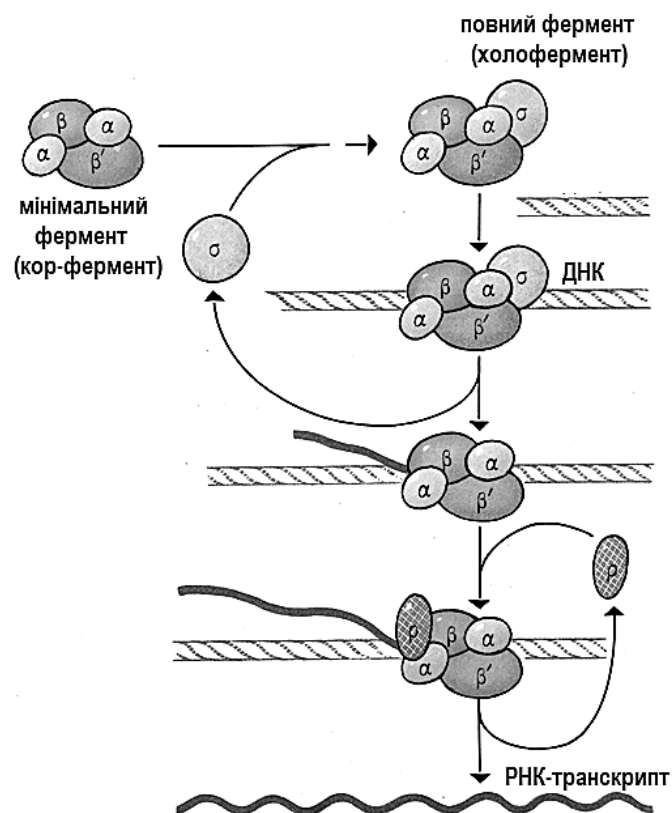
Сигнал ядерної локалізації уперше був виявлений у білка вірусу SV40 (родина Polyomaviridae). Цей сигнал дозволяє білку зв'язуватися з білками клітини, імпортинами, і далі з філаментами ядерної пори, через яку білок і транспортується в ядро.

РНК також транспортуються усередині клітини, наприклад мРНК після синтезу в ядрі повинні експортуватися через ядерну пору в цитоплазму. РНК доставляється в потрібні місця білками, які з нею зв'язуються. Білок Rev ВІЛ-1 (родина Retroviridae) має як сигнал ядерної локалізації, так і сигнал експорту з ядра (Мал. 4.19). Завдяки сигналу ядерної локалізації, Rev транспортується в ядро, де специфічно зв'язується з РНК вірусу. Завдяки сигналу експорту з ядра, Rev і зв'язана з ним РНК транспортуються через ядерну пору в цитоплазму.



**Мал. 4.19.** Білок Rev BIL-1. На малюнку застосовані однолітерні позначення амінокислот. Сигнал ядерної локалізації збагачений залишками аргініну (R). Сигнал експорту з ядра збагачений залишками лейцину (L) (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

**Транскрипція і трансляція в клітинах бактерій.** У прокаріотів відомий єдиний тип ДНК-залежної РНК-полімерази. Фермент *E. coli* складається з каталітичного кор-ферменту (Мал. 4.20), який містить одну субодиницю  $\beta$ , одну субодиницю  $\beta'$  і дві субодиниці  $\alpha$ , а також регуляторного білка, сигма-фактора ( $\sigma$ ). Сигма-фактор визначає специфічність до промоторів і дозволяє полімеразі розпізнавати і зв'язуватися зі специфічними промоторами у вірній орієнтації для ініціації транскрипції. Бактерійні промотори мають характерні послідовності:  $-10$  регіон (Прибнов-бокс) і  $-35$  регіон, які знаходяться на 10 і 35 пар нуклеотидів лівіше (вище) за початок транскрипції. Ці послідовності розпізнають сигма-фактори. Після ініціації транскрипції, сигма-фактор від'єднується і може бути використаний повторно.



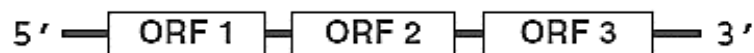
**Мал. 4.20.** Транскрипція за участі РНК-полімераза прокаріотів. Пояснення у тексті.



Різні сигма-фактори розпізнають різні промотори. Транскрипція завершується після транскрипції термінатора. Завершення транскрипції може бути ро-незалежним (внутрішнім) і ро-залежним. Ро-незалежна термінація опосередкована послідовністю ДНК-матриці, яка включає інвертований повтор і декілька залишків аденіну. Ця послідовність розташована правіше за ро-незалежні гени. Після синтезу ланцюга комплементарної РНК, в цій ділянці щойно синтезована молекула формує стебло-петлю, за якою розташовано декілька урацилів. Зв'язки між аденінами ДНК і урацилами РНК призводять до утворення гібридної РНК-ДНК, і транскрипт РНК від'єднується від матриці.

Ро-залежна термінація включає так званий ро-фактор (rho factor), який має геліказну і АТФ-азну активності, завдяки яким він розкручує гібрид РНК-ДНК, коли полімераза досягає інвертованого повтору. Це призводить до вивільнення транскрипту.

Клітини бактерій і віруси, що вражають їх, використовують механізми транскрипції і трансляції, які по низці аспектів відрізняються від механізмів, використовуваних еукаріотами. У геномах бактерій і вірусів бактерій інтрони трапляються лише інколи. Деякі фаги для своєї транскрипції використовують ДНК-залежні РНК-полімерази хазяїна, тоді як інші кодують свої власні. мРНК еукаріотів в типовому випадку моноцистронні, а у бактерій – поліцистронні, тобто кожна мРНК має декілька відкритих рамок зчитування (Мал. 4.21). мРНК бактерій і їх вірусів ніколи не бувають кепованими на 5'-кінці і лише деколи мають полі(А) хвіст на 3'-кінці.



**Мал. 4.21.** У типовому випадку мРНК бактерій, як і мРНК бактеріофагів, має декілька відкритих рамок зчитування, які можуть транлюватися одночасно. 5'-кінець не має кепи, 3'-кінець має полі(А) в окремих випадках (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Трансляція у бактерій відрізняється від трансляції у еукаріотів низкою особливостей:

- трансляція може починатися до того, як завершиться транскрипція: відсутність ядра дозволяє одночасному перебігу транскрипції і трансляції.
- рибосоми прокаріотів менше, ніж у еукаріотів (субодиниці рибосом мають коефіцієнти седиментації 30S і 50S).
- субодиниця 30S рибосом зв'язується безпосередньо з регіоном ініціації трансляції на мРНК. Ініціація зазвичай включає взаємодію між послідовністю Шайна-Дальгарно (Shine-Dalgarno sequence, S-D) на мРНК і комплементарною анти-S-D послідовністю на 3'-кінці молекули 16S рРНК 30S субодиниць. Регіон ініціації трансляції знаходиться безпосередньо перед стартовим кодоном AUG. Послідовність S-D складається з шести нуклеотидів AGGAGG; у випадку *E. coli* послідовність Шайна-Дальгарно є AGGAGGU. Послідовність анти-

S-D на рибосомній 16S РНК містить CCUCCU.

- метіонін в ініціаторній метионіл-тРНК зазвичай є формілованим (містить групу –CHO).
- у ініціації трансляції бере участь значно менше факторів ініціації в порівнянні з еукаріотами.
- транлюються усі ORF в межах мРНК. Декілька фагів містять гени, що перекриваються, і їх трансляція відбувається за допомогою читання через стоп-кодон або фреймшифтингу.

#### 4.4. Реплікація вірусної нуклеїнової кислоти

Реплікація генома вірусу, що заразив клітину, забезпечує додаткові копії нуклеїнової кислоти для підвищення інтенсивності транскрипції і забезпечує копіями геномів дочірні віріони.

Найчастіше ДНК-геномні віруси копіюють свої геноми безпосередньо в ДНК, а РНК-геномні віруси – в РНК. Проте деякі ДНК-геномні віруси синтезують геноми через проміжну РНК-форму, а деякі РНК-геномні віруси – через проміжну ДНК-форму.

Якщо говорити про внутрішньоклітинну локалізацію реплікації нуклеїнової кислоти вірусів, то вона залежить від типу генома. Геноми більшості ДНК-вірусів реплікуються в ядрі, хоча деякі віруси, що містять дволанцюгову ДНК, реплікуються в цитоплазмі. Геноми більшості РНК-вірусів реплікуються в цитоплазмі, проте віруси, геноми яких представлені сегментованою (–)РНК, реплікуються в ядрі. Особливі випадки становлять ретровіруси і параретровіруси (класи VI і VII за системою Д. Балтімора), у яких стадія реплікації РНК в ДНК (зворотна транскрипція) здійснюється в цитоплазмі, а реплікація ДНК в РНК – в ядрі.

Ключовими ферментами, які виконують реплікацію вірусних геномів, є ДНК-полімерази і РНК-полімерази. Багато вірусів кодують свої власні полімерази, тоді як інші використовують ферменти клітини.

Віруси, що містять в геномах ДНК, потребують ДНК-залежної ДНК-полімерази. Серед ДНК-геномних вірусів, у яких реплікація генома здійснюється в ядрі клітини, віруси з невеликими геномами (наприклад папіломавіруси) використовують фермент хазяїна, тоді як віруси з великими геномами (наприклад герпесвіруси) кодують свої власні ферменти. ДНК-геномні віруси, у яких реплікація генома відбувається в цитоплазмі, завжди кодують свої власні ферменти, оскільки відповідних ферментів клітини в цитоплазмі немає.

У вірусів, що мають в геномах РНК, реплікація генома здійснюється РНК-залежною РНК-полімеразою. Хоча такі ферменти містять рослини і деякі інші еукаріоти, віруси використовують виключно кодовані ними ферменти. У багатьох вірусів ця РНК-залежна РНК-полімераза є тим самим ферментом, який використовується і для транскрипції.

Ретровіруси і параретровіруси кодують фермент зворотну транскриптазу, який здійснює транскрипцію РНК в ДНК, і використовують РНК-полімеразу II клітини-хазяїна для транскрипції ДНК в РНК.

**Реплікація геномів ДНК-геномних вірусів (класи 1 і 2 за системою Д. Балтімора).** Віруси, геном яких є ДНК, заражають тварин, рослин і бактерій. Геномна ДНК може бути одно- або дволанцюговою, лінійною або замкненою в кільце. Основний механізм, за допомогою якого в клітині синтезується новий ланцюг ДНК, є тим самим, незалежно від того, реплікується ДНК самої клітини або вірусу. Проте віруси використовують цей основний механізм різними способами, відповідно до специфіки структури свого генома.

**Загальний механізм реплікації ДНК.** В ході успішної реплікації дволанцюгової ДНК синтезуються два дочірні ланцюги. Процес синтезу нових ланцюгів повинен починатися на якійсь ділянці. Ділянка молекули матриці, на якій починається синтез, є специфічною і називається точкою початку реплікації, або *ori* (від англ. *origin of replication*). Для того, щоб реплікація почалася, з цією точкою повинні зв'язатися специфічні білки, і два ланцюги ДНК мають бути відокремлені один від одного, щоб правити за матриці для синтезу. Точка початку реплікації має специфічну послідовність нуклеотидів, яка є симетричною в кожному ланцюзі і збагачена АТ-парами.

Оскільки батьківські ланцюги антипаралельні, дочірні ланцюги також мають бути антипаралельними. Якщо ДНК-полімераза просто переміщатиметься уздовж дволанцюгової батьківської молекули ДНК, то один дочірній ланцюг має бути синтезований у напрямі  $5' \rightarrow 3'$ , а інший у напрямі  $3' \rightarrow 5'$ . Проте усі відомі на сьогодні ДНК-полімерази не здатні проводити синтез ДНК у напрямі  $3' \rightarrow 5'$ . Більше того, і біохімія процесу синтезу ДНК переконує, що такий синтез неможливий.

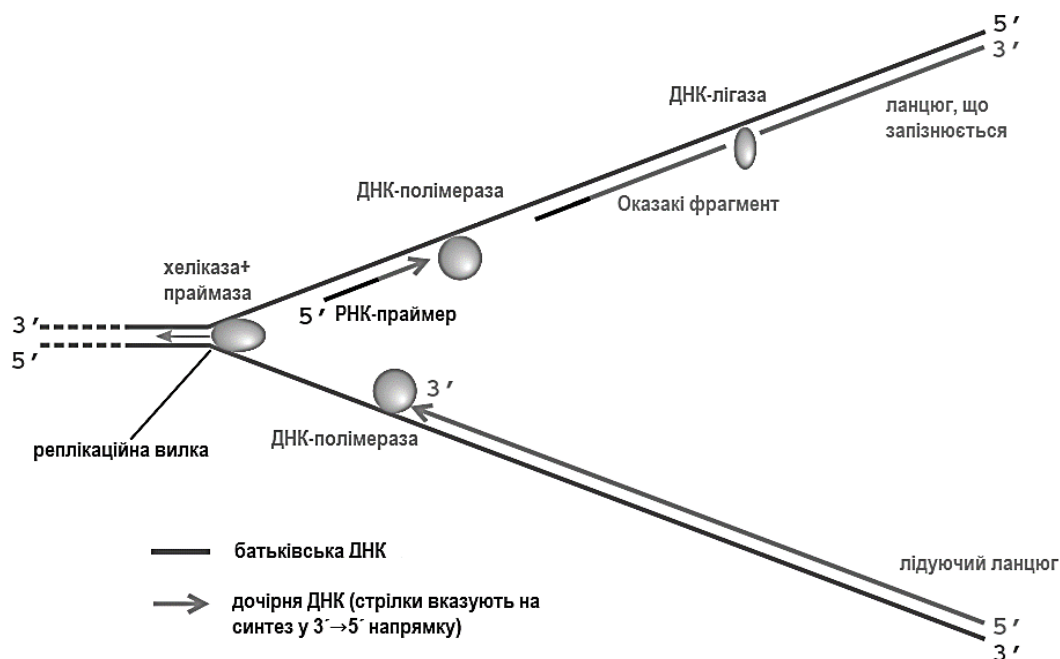
Одним з вирішень цієї проблеми є та, що синтез дочірнього ланцюга у напрямі  $5' \rightarrow 3'$  відбувається безперервно на одному батьківському ланцюзі, що називається **лідуючим ланцюгом**. В той же час на протилежному ланцюзі, що називається **ланцюгом, що запізнюється**, синтез ДНК відбувається також у напрямі  $5' \rightarrow 3'$ , але переривчасто. По суті, коли комплекс ферментів рухається уздовж лідуючого матричного ланцюга, збільшується довжина одностанцюгової ділянки ланцюга, що запізнюється. Як тільки вона досягає достатньої довжини, ініціюється синтез фрагмента дочірнього ланцюга, поки полімераза не досягне  $5'$ -кінця раніше синтезованого фрагмента. Такі фрагменти були названі фрагментами Оказакі на честь японського ученого Р. Оказакі, який показав їх наявність під час вивчення реплікації ДНК бактеріофага у бактерії *Escherichia coli* в 1968 році. Таке рішення проблеми односпрямованого синтезу ланцюга ДНК використовують усі живі організми. Його використовує також низка вірусів (Мал. 4.22).

Альтернативним рішенням проблеми односпрямованого синтезу, яке використовують деякі віруси, є розділення в часі синтезу дочірніх ланцюгів ДНК: кожен з ланцюгів синтезується окремо. Прикладом вірусів, що використовують такий механізм реплікації, є аденовіруси. Однією з причин, чому такий механізм не використовується ширше, є та, що синтез одного ланцюга неминуче затримується стосовно синтезу іншого ланцюга, і отже в проміжний період після першої реплікації фермент повинен пройти через подвійний ланцюг одного ланцюга матриці і скопійованого першого ланцюга, таким чином відкривається значна доля одноланцюгової ДНК (другий ланцюг матриці). Одноланцюгова ДНК схильна до рекомбінацій, тому платою за подібний механізм реплікації буде генетична нестабільність, яка неприйнятна для організмів з великим геномом.

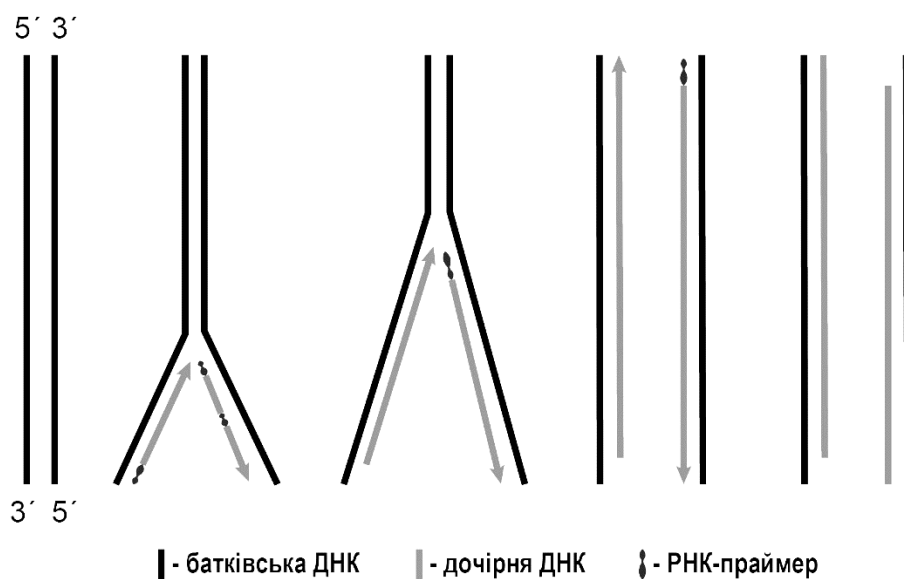
Протягом реплікації, синтез нового ланцюга ДНК повинен ініціюватися, принаймні, на початку процесу. Це призводить до виникнення нової проблеми, оскільки ДНК-полімерази не здатні починати синтез ДНК *de novo*, вони вимагають гідроксильної групи, праймера, з якої синтез буде тривати. Загальним рішенням цієї проблеми є використання особливої ДНК-залежної РНК-полімерази, оскільки вона не вимагає праймера для початку синтезу. Цей фермент (праймаза) синтезує на ДНК-матриці короткий РНК-праймер, який надалі використовується ДНК-полімеразою для продовження синтезу. Після використання праймера, він видаляється специфічним ферментом, який розпізнає і руйнує РНК, спарену з ДНК. Проміжок надалі заповнюється знову синтезованою ДНК, і фрагменти з'єднуються ДНК-лігазою (Мал. 4.22).

Необхідність у праймері для синтезу ДНК створює труднощі в забезпеченні реплікації кінців лінійних молекул. Коли синтез у напрямі  $5' \rightarrow 3'$  ініціюється РНК-праймером, який далі видаляється, то немає механізму для заповнення проміжку на  $5'$ -кінці лідируючого ланцюга. У кінці циклу реплікації така ж проблема виникає у ланцюга, що запізнюється. Без вирішення цієї проблеми, результатом реплікації будуть одноланцюгові хвости на  $3'$  кінцях батьківських ланцюгів і дочірні ланцюги неповної довжини (Мал. 4.23). Зрештою, після кожного циклу реплікації ДНК коротшатиме.

Проблема «реплікації кінців» є загальною у біології. У багатьох еукаріотів вона вирішується за допомогою використання теломер на кінцях кожної лінійної хромосоми. Теломери складаються з численних повторів нуклеотидів, пов'язаних зі спеціальними білками. Існує спеціальний фермент – теломераза, який за допомогою власної РНК-матриці добудовує теломерні повтори і подовжує теломери в кожному циклі ділення. Таким чином, довжина хромосом зберігається від одного ділення до іншого. У людини у більшості диференційованих клітин теломераза не експресується, проте активна в деяких (наприклад, статевих) клітинах.



**Мал. 4.22.** Схематичне зображення реплікації ДНК. Комплекс хеліказа+праймаза розкручує дволанцюгову батьківську ДНК і синтезує РНК-праймери, які використовуються ДНК-полімеразою для ініціації синтезу ДНК. Лідуючий ланцюг синтезується безперервно, ланцюг, що запізнюється, синтезується у вигляді фрагментів Оказаки, які з'єднуються разом ДНК-лігазою (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).



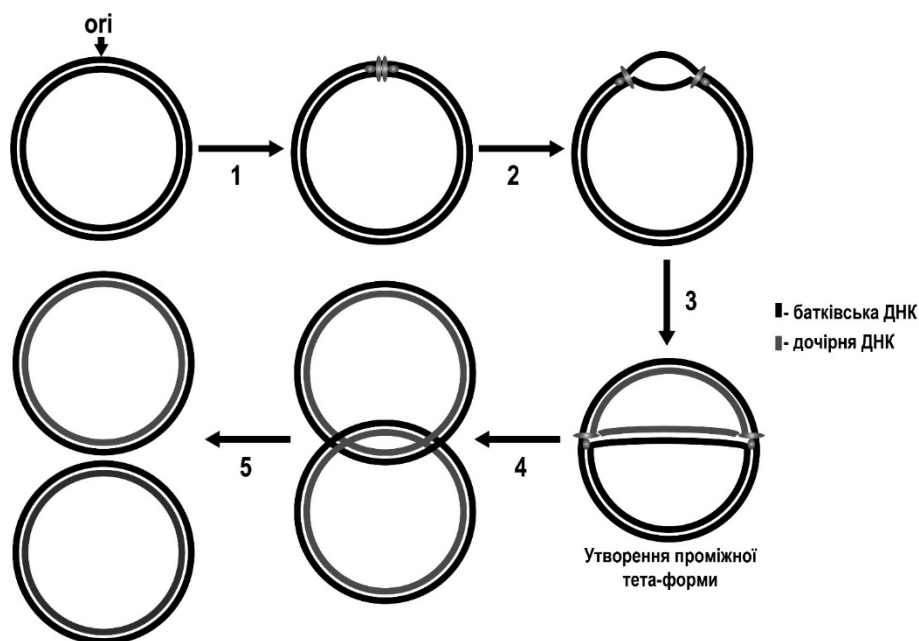
**Мал. 4.23.** Укорочення дочірніх ланцюгів ДНК на 5'-кінцях підчас реплікації лінійних молекул ДНК.

Прокаріоти, на відміну від еукаріотів, вирішують цю проблему шляхом використання геномів, замкнених в кільце. А у кільця немає кінця!

Реплікація замкнених в кільце ДНК у загальному випадку відбувається за участі двох різних механізмів, які інколи звать реплікацією через тета-форму і реплікацією через сигма-форму, або реплікацією за механізмом кільця, що котиться. Назви «тета-форма» і «сигма-форма» обумовлені тим, що протягом реплікації на

проміжних етапах реплікаційні комплекси нагадують грецькі літери тета ( $\theta$ ) і сигма ( $\sigma$ ) відповідно.

При першому механізмі кільцевий геном має єдину точку початку реплікації (Мал. 4.24), з якою починається координований синтез обох ланцюгів з використанням РНК-праймерів. Далі утворюються дві реплікаційні вилки, які рухаються в протилежних напрямках. У міру просування реплікаційних вилок формується структура, яка нагадує грецьку букву «тета» і яку називають проміжною тета-формою.

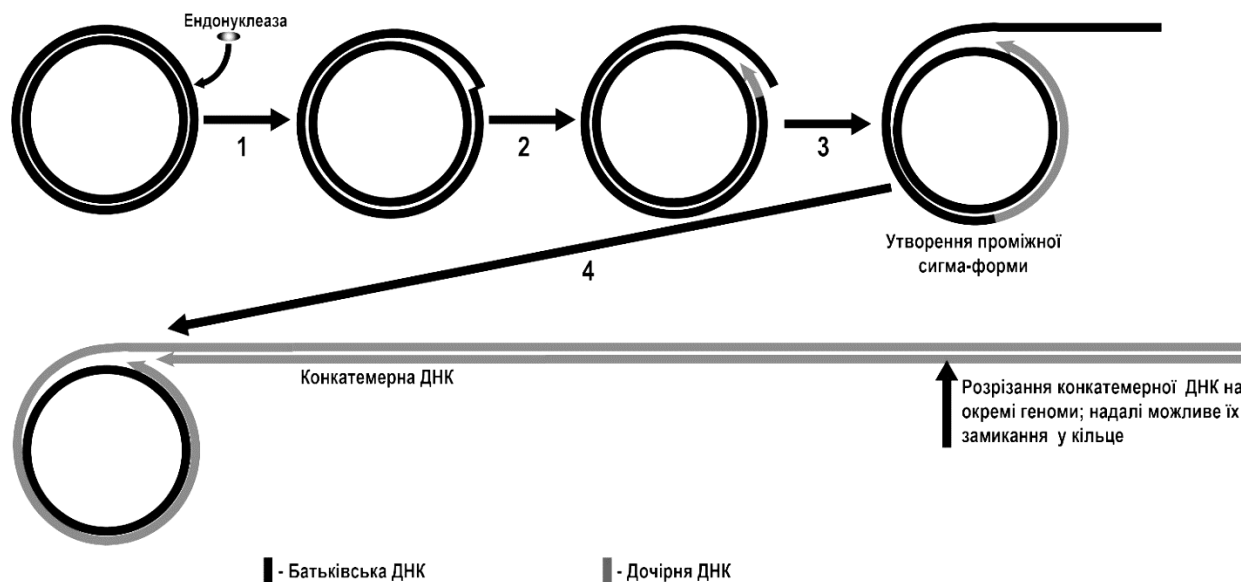


**Мал. 4.24.** Схема реплікації кільцевої ДНК через тета-форму. *ori* – точка початку реплікації. 1 - Розпізнавання реплікаційним комплексом точки початку реплікації; 2 - ініціація реплікації; 3, 4 – елонгація; 5 – розчеплення кілець.

Зрештою, реплікаційні вилки зустрічаються на протилежній відносно точки початку реплікації стороні геномної ДНК, завершивши повне копіювання обох ланцюгів. Спочатку нові геноми є топологічно пов'язаними, що є неминучим за умови реплікації кільцевої молекули, і на завершальному етапі реплікації відбувається їх розчеплення.

При реплікації за механізмом кільця, що котиться (Мал. 4.25) спочатку спеціальна ендо- нуклеаза розрізає в специфічній ділянці один ланцюг ДНК. Далі 3'-кінець ДНК, що утворився в результаті розрізання, править за праймер для початку синтезу нового ланцюга ДНК з використанням як матриці нерозрізаного ланцюга. 5'-кінець розрізаного ланцюга витісняється в міру синтезу нового ланцюга, і на певному етапі реплікації весь комплекс нагадує грецьку букву сигма. Синтез нової ДНК на кільцевій матриці нерозрізаного ланцюга вихідної ДНК продовжується, і в міру подовження одноланцюгового «хвоста» розрізаного ланцюга на ньому звичайним шляхом з використанням РНК-праймерів синтезується другий ланцюг ДНК. Нерозрізаний кільцевий ланцюг, який є матрицею для

синтезу, як би котиться і в кінцевому підсумку синтезуються безліч лінійних копій вихідної кільцевої ДНК, з'єднаних «голова до хвоста» і званих конкатемерами. Нарешті, ці лінійні копії розрізаються і замикаються в кільце.



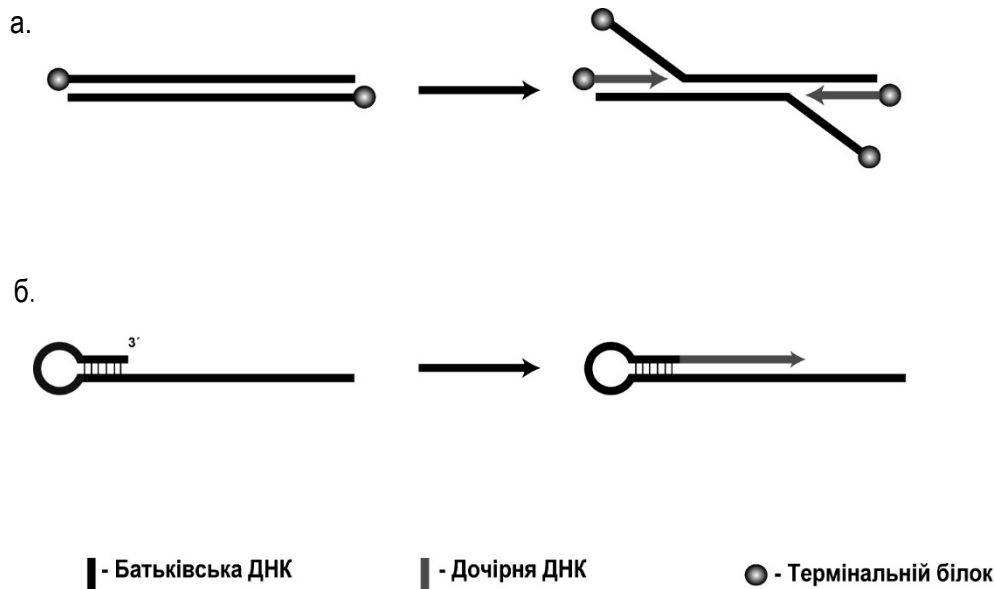
**Мал. 4.25.** Схема реплікації кільцевої ДНК через сігма-форму. *ori* – точка початку реплікації. 1 – Роз-різання одного з ланцюгів ендонуклеазою 2 - ініціація реплікації; 3, 4 – елонгація з утворенням конкатемерної ДНК; 5 – розрізання конкатемерної ДНК на окремі геноми і замикавання їх у кільце. Задля спрощення, білки реплікаційного комплексу не відображені.

Віруси, геноми яких являють собою замкнену в кільце або здатну замикатися в кільце ДНК, реплікують геноми з використанням зазначених вище механізмів. Однак низка вірусів мають в геномах лінійні ДНК, які в кільце замикатися нездатні. Для забезпечення синтезу повного геному ці віруси використовують такі дві стратегії.

При першій, ДНК-полімераза як праймер використовує бічну –ОН групу так званого попередника термінального білка. Це дозволяє реплікацію ДНК, починаючи з першого нуклеотиду (оскільки праймер не перекриває кінець батьківського ланцюга). В кінцевому підсумку кожен з ланцюгів геномної ДНК виявляється ковалентно зв'язаним з термінальним білком (Мал. 4.26а).

Друга стратегія полягає в самопраймуванні, тобто використанні 3'-кінця самої геномної ДНК у ролі праймера. Це може бути або вільний кінець, який утворює шпильку за рахунок взаємодії комплементарних нуклеотидів на кінцях ДНК (Мал. 4.26б), або такий кінець може утворитися в результаті розрізання одноланцюгової ДНК, яка має ковалентно зв'язані кінці.

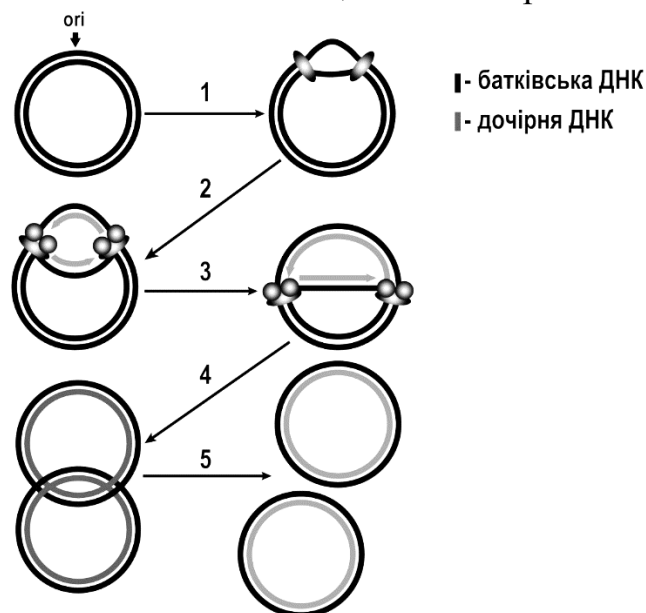
Віруси, які мають в геномі ДНК і належать до VII класу по системі Д. Балтімора, реплікують свої ДНК з утворенням проміжного продукту у вигляді РНК, на матриці якої за участю зворотної транскриптази синтезується геномна ДНК. Деталі реплікації геномів цих вірусів будуть розглянуті нижче.



**Мал. 4.26.** Схема реплікації лінійної ДНК вірусів. а – В ролі праймера використовується попередник термінального білка, який у підсумку залишається ковалентно зв'язаним з кожним ланцюгом ДНК. б – за праймер править сама ДНК (самопраймування), що стає можливим завдяки утворенню шпильки на кінцях ДНК. Зображена шпилька, утворена на 3'-кінці геномної ДНК.

**Реплікація геномів вірусів, які представлені кільцевою дволанцюговою ДНК.** Одним з найбільш вивчених вірусів є SV40 (родина Polyomaviridae). Його геном є кільцевою дволанцюговою ДНК завдовжки 5243 пар нуклеотидів. Його реплікація відбувається через сигма-форму, як на Мал. 4.25.

Кільцевий геном має єдину точку початку реплікації (Мал. 4.27), з якої починається координований синтез обох ланцюгів з використанням РНК-праймерів.



**Мал. 4.27.** Схема реплікації ДНК вірусу SV40. Ori – точка початку реплікації. 1 - Розпізнавання T-антигеном точки початку реплікації; 2 - ініціація реплікації; 3, 4 – елонгація; 5 – розчеплення (за N. J. Dimmock et al., 2007).



Далі утворюються дві реплікаційні вилки, які рухаються в протилежних напрямках. Зрештою, реплікаційні вилки зустрічаються на протилежній відносно точки початку реплікації стороні геномної ДНК, завершивши повне копіювання обох ланцюгів. На завершальному етапі реплікації відбувається їх розчеплення.

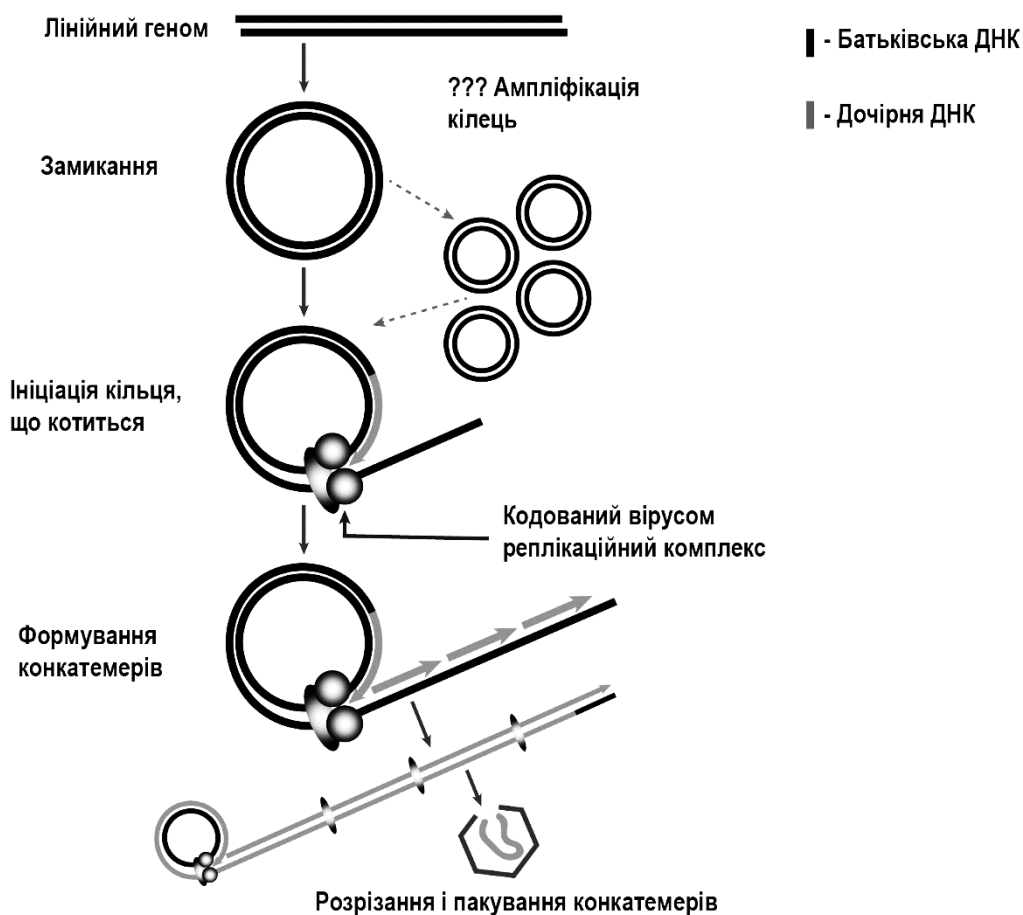
Для реалізації процесу реплікації геномної ДНК вірусу SV40 потрібні 10 білків. Тільки один білок кодується вірусом, інші дев'ять належать клітині хазяїна. Заслугове особливої згадки та обставина, що клітинні білки протягом реплікації вірусної ДНК виконують таку ж функцію, яку вони виконують і протягом реплікації власної ДНК клітини.

Вірусний білок, великий Т-антиген, виконує багато функцій, необхідних для реплікації вірусної ДНК. По-перше, він є білком-ініціатором, необхідним для ініціації реплікації; по-друге, він володіє ДНК-хеліказною активністю, тобто розплітає ланцюги ДНК перед працюючою ДНК-полімеразою, і, по-третє, Т-антиген потрібний для правильної взаємодії з ДНК ферментного комплексу, що синтезує праймери.

Реплікація деяких інших вірусів, що мають кільцеві длДНК-геноми, відбувається аналогічно реплікації SV40, хоча можливі деякі варіації. Наприклад, у представника сімейства папіломавірусів бичачого вірусу папіломи роль великого Т-антигену виконують два кодовані вірусом білка, E1 і E2.

**Реплікація геномів вірусів, які являють собою лінійну дволанцюгову ДНК, яка здатна замикатися в кільце.** До цієї категорії відносяться зокрема патогенні для людини віруси простого герпесу типу 1 і 2 і вірус Епштейна-Барр, він же вірус герпесу типу 4 (родина Herpesviridae). До цього типу відноситься також бактеріофаг  $\lambda$  (родина Siphoviridae), класична модель вивчення експресії генів.

Особливістю генома вірусу герпесу типу 1 є наявність окремого нуклеотиду на 3'-кінці кожного ланцюга. Ці нуклеотиди є комплементарними і обумовлюють замикання ДНК в кільце перед реплікацією. Далі, непрямі дані вказує на можливість, що спочатку відбувається ампліфікація кільцевої ДНК, подібно до реплікації ДНК вірусу SV40, розглянутої вище. Сама реплікація відбувається за участю низки білків, що кодується вірусом. Вірусні білки забезпечують розпізнавання точки початку реплікації, мають активність ДНК-хелікази, зв'язують одноланцюгову ДНК, забезпечують синтез праймерів. Вірусне походження має також ДНК-полімераза. Участь білків клітини-хазяїна в процесі реплікації відносно невелика, але клітина забезпечує топоізомеразу. Конкатемерна ДНК розрізається на геноми однакової довжини тільки під час пакування у капсиди (Мал. 4.28).



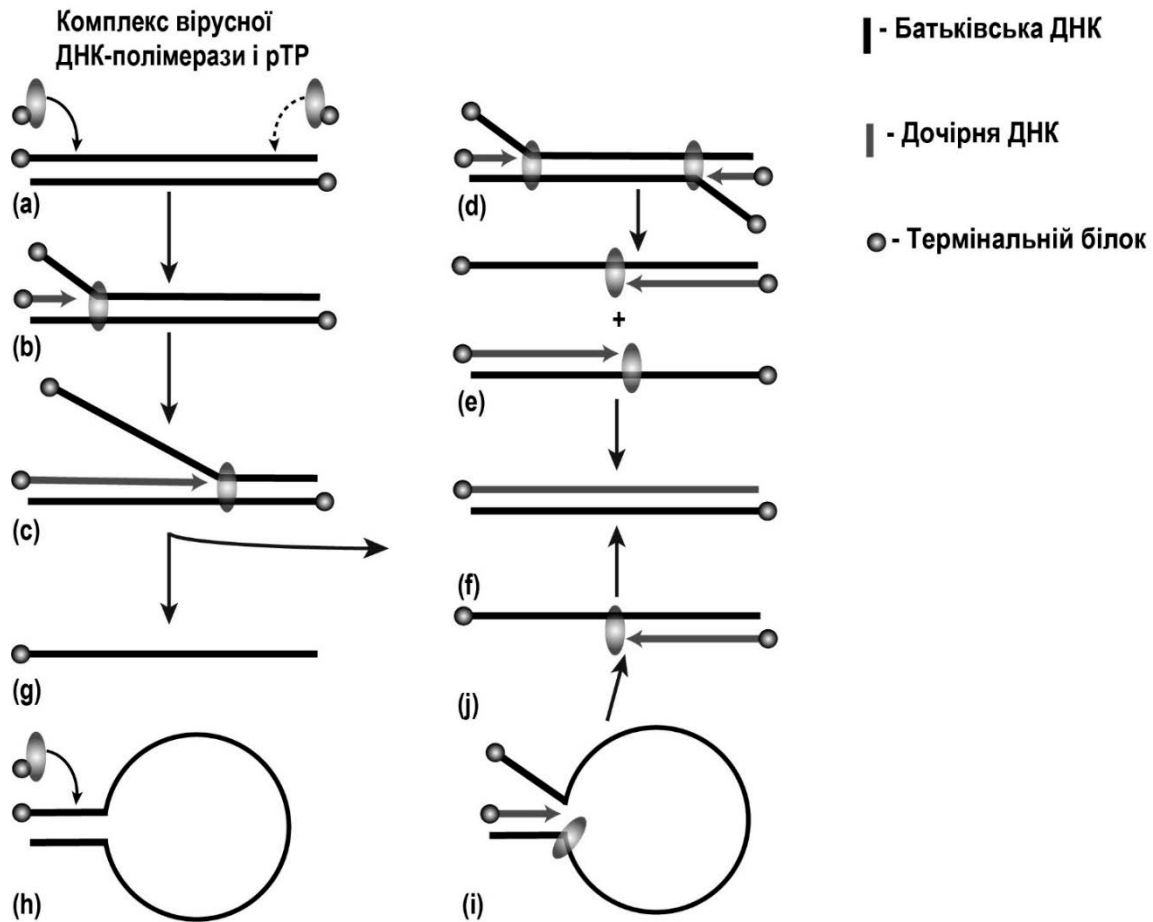
Мал. 4.28. Схема реплікації ДНК вірусу герпесу туну 1 (за N. J. Dimmock et al., 2007).

**Реплікація геномів вірусів, які представлені лінійною дволанцюговою ДНК, яка не здатна замикатися в кільце.** До цієї категорії належать родина аденовірусів, що викликають зокрема захворювання дихальних шляхів (застуду), а також родина поксвірусів, до якого належать віруси натуральної віспи і коров'ячої віспи.

**Аденовіруси.** Геном аденовірусів є лінійною дволанцюговою ДНК завдовжки близько 36 тис. пар нуклеотидів. На двох кінцях є інвертовані термінальні повтори завдовжки 100–150 пар нуклеотидів, які містять точки початку реплікації, до 5'-кінця кожного ланцюга ковалентний прикріплений кодований вірусом білок, названий термінальним білком. Задля попередження скорочення генома протягом реплікації, віруси використовують стратегію, аналогічну зображеній на Мал. 4.26а

Точка початку реплікації розпізнається комплексом двох білків вірусу – ДНК-полімерази і попередника термінального білка (pTP) (Мал. 4.29). Зв'язуванню цього комплексу з ДНК вірусу сприяють два білки клітини-хазяїна, які специфічно зв'язуються з послідовностями, суміжними з точкою початку реплікації. Ці білки є факторами транскрипції, які вірус «запозичує» у клітини для своїх потреб.

Після зв'язування з точкою початку реплікації комплексу ДНК-полімерази і рТР, полімераза починає синтез дочірнього ланцюга ДНК, використовуючи як праймер бічну –ОН групу білка (Мал. 4.29, b).



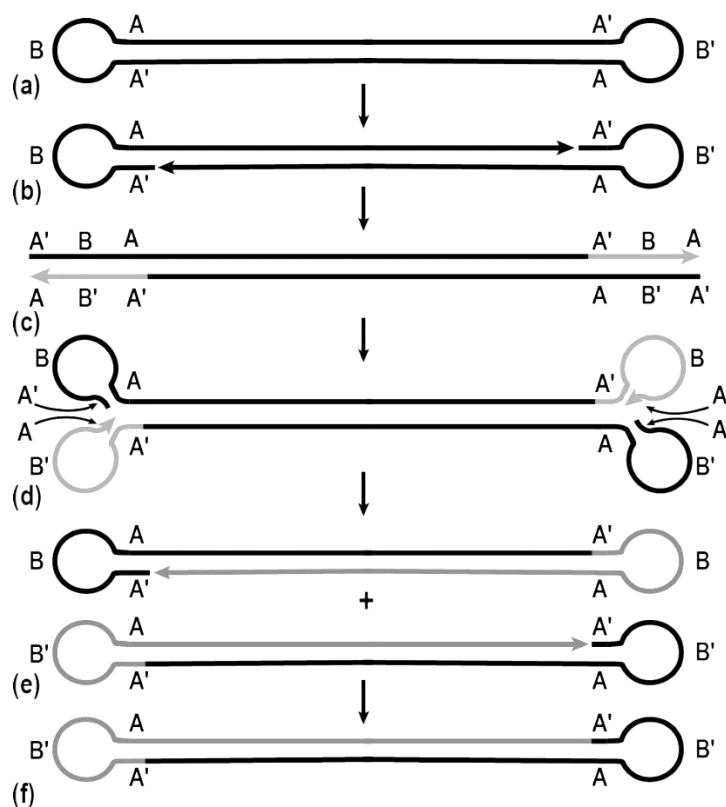
**Мал. 4.29.** Схема реплікації ДНК аденовірусів. Обговорення див. в тексті (за N. J. Dimmock et al., 2007). рТР – попередник термінального білка.

Таким чином, роль праймера під час синтезу ДНК виконує білок, а не РНК, що є ключовою особливістю вирішення проблеми реплікації кінців у аденовірусів. Далі синтез відбувається у напрямі  $5' \rightarrow 3'$  уздовж матриці, витісняючи нематричний ланцюг, який зв'язується і стабілізується ДНК-зв'язуючим білком, що кодується вірусом (Мал. 4.29, c). Цей процес може здійснюватися одночасно з точок реплікації на обох кінцях батьківської ДНК (Мал. 4.29, d), і батьківські ланцюги розходяться під час зустрічі реплікаційних комплексів (Мал. 4.29, e). Коли використовується тільки одна точка початку реплікації, нематричний ланцюг повністю витісняється (Мал. 4.29, g), і його реплікація виконується за допомогою утворення проміжного продукту, що має конфігурацію «сковороди з ручкою» (Мал. 4.29, h), у якого коротка дволанцюгова ділянка повністю відповідає кінцю генома і відповідно має точку початку реплікації. В даному випадку синтез ДНК протікає безперервно, оскільки реплікаційним комплексом синтезується тільки один ланцюг ДНК, і немає ланцюга, що запізнюється.

*Поксвіруси.* Найбільш вивченим є вірус коров'ячої віспи, який ще називають вірусом вісповакцини, оскільки його використовують протягом приготування вакцини проти натуральної віспи. Генوم цього вірусу лінійний, має довжину близько 190 тис. пар нуклеотидів і є незвичайним в тому, що має ковалентний замкнені кінці. Це означає, що пари нуклеотидів на кожному кінці пов'язані звичайним 5'→3' зв'язком, так що в молекулі ДНК немає вільних 5'- або 3'-кінців. Внаслідок цього, за умови повної денатурації ДНК вірусу утворюються не два окремі ланцюги ДНК, а одноланцюгова замкнена в кільце ДНК.

Подробиці реплікації геномів поксвірусів не є добре зрозумілими, але вважають, що вони для вирішення проблеми реплікації кінців їх геномів використовують стратегію, подібну зображеній на Мал. 4.26б, але особливим чином, оскільки ДНК не має вільних кінців. Важливо підкреслити, що процес реплікації ДНК вірусу здійснюється в цитоплазмі зараженої клітини, за участю виключно кодованих вірусом білків.

Передбачувана модель реплікації наведена на Мал. 4.30.



**Мал. 4.30.** Передбачувана схема реплікації ДНК поксвірусів. Чорним кольором позначені ланцюги батьківської ДНК, сірим – щойно синтезована ДНК, стрілками позначені 3'-кінці. Комплементарні послідовності позначені як A, A' і B, B'. Дві альтернативні форми послідовностей термінальних петель, B і B', міняються з кожною реплікацією; окремі молекули можуть мати петлі або з ідентичними, або з комплементарними послідовностями. Пояснення див. в тексті (за N. J. Dimmock et al., 2007).

На двох кінцях генома є інвертовані термінальні повтори, які містять декілька генів (Мал. 4.30, а). Як вважають, реплікація ініціюється за допомогою розпізнавання і розрізання одного з ланцюгів ДНК в специфічній ділянці в межах інвертованого повтору (Мал. 4.27b). Ця ділянка є точкою початку реплікації. Одночасно можуть використовуватися один або обидві такі ділянки на молекулі. Далі ДНК-полімераза рухається у напрямку 3'-кінця, що утворився внаслідок розрізання ланцюгів, поки не досягне кінця матриці (Мал. 4.27c). Проте в цій точці полімераза не зупиняється, оскільки завдяки наявності термінальних повторів комплементарні основи поєднуються і знову утворюється матриця для подальшого синтезу ДНК, і синтез триває у напрямку до середини молекули (Мал. 4.27, d). Коли дві реплікаційні вилки зустрічаються, дві половини розходяться і реплікація завершується (Мал. 4.27, e), а кінці ланцюгів з'єднуються (Мал. 4.27, f).

**Реплікація геномів вірусів, які мають кільцеву одноланцюгову ДНК.** До цієї категорії відносяться зокрема бактеріофаги фХ174 (родина Microviridae) і М13 (родина Inoviridae), які є широко використовуваними інструментами в молекулярній біології, а також вірус ТТ людини (родина Anelloviridae), який можливо викликає гепатит (назва вірусу ТТ, відкритого в 1997 р., утворена з ініціалів хворого, у якого він уперше був виявлений).

Першим етапом реплікації одноланцюгових ДНК-геномів є синтез комплементарного ланцюга. Після цього механізм реплікації стає подібним до реплікації дволанцюгових замкнених в кільце геномів (Мал. 4.24, Мал. 4.25). Найбільш вивченим прикладом є реплікація генома бактеріофага фХ174. Одноланцюгова ДНК, що потрапила в клітину, перетворюється на дволанцюгову форму за допомогою залежного від праймерів РНК синтезу. Далі батьківська ДНК в дволанцюговій формі ампліфікується, а потім відбувається синтез одноланцюгової ДНК механізмом кільця, що котиться, який формує одноланцюгові конкатемери. Ці конкатемери потім розрізаються і замикаються в кільце.

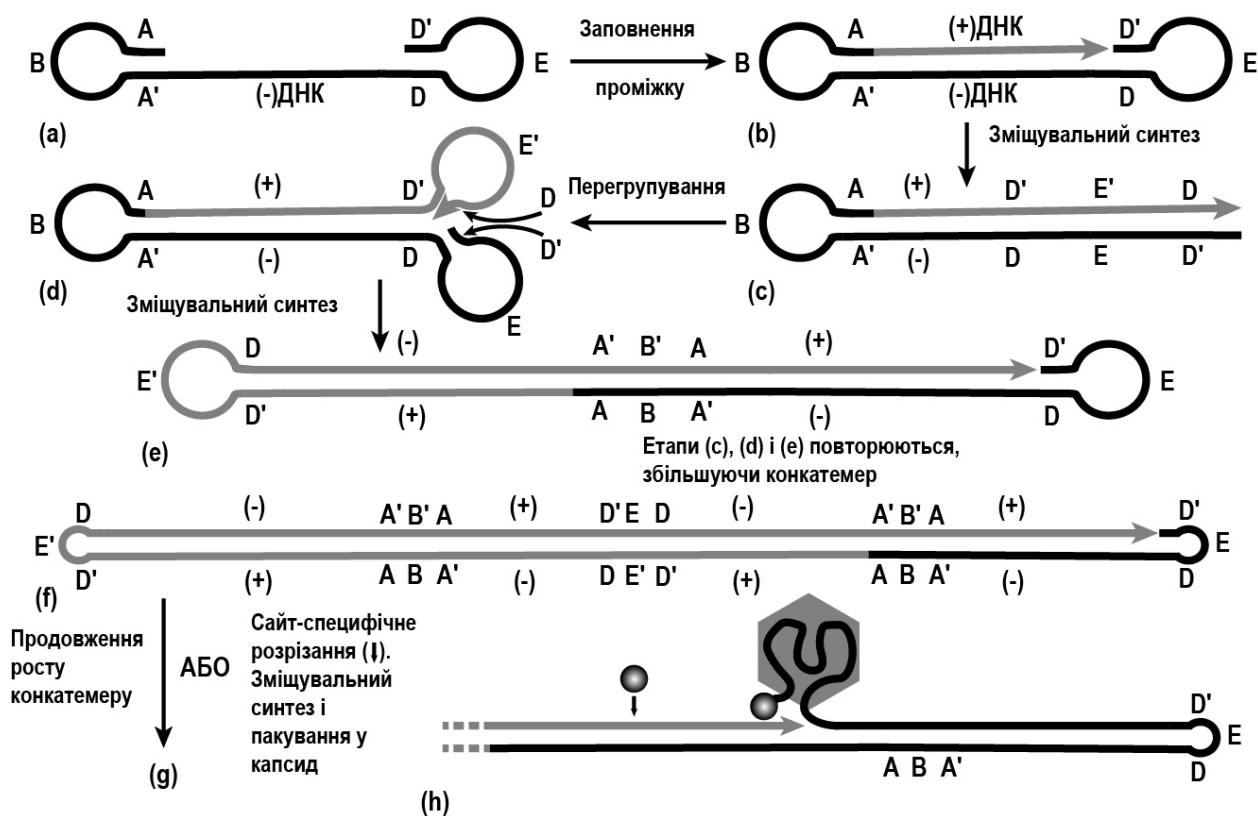
Подробиці реплікації вірусу ТТ людини досі залишаються невідомими.

**Реплікація геномів вірусів, які мають лінійною одноланцюгову ДНК.** До цієї категорії належать парвовіруси, зокрема автономний парвовірус В19, що вражає людей, і дефектні парвовіруси, що асоційовані з аденовірусами.

Геноми парвовірусів містять термінальні шпильки (інвертовані повтори), які можуть бути свого роду праймерами, оскільки надають ОН-групу для ініціації синтезу ДНК (самопраймування ДНК, Мал. 4.26). Загальна схема реплікації геномів парвовірусів показана на Мал. 4.31.

Важливим першим кроком реплікації парвовірусу є перетворення генома на дволанцюгову форму за допомогою заповнення проміжку (Мал. 4.31, а, b). Термінальна шпилька забезпечує 3'-кінець спареної основи з ОН-групою, з якого синтез ДНК може ініціюватися без РНК-праймерів (самопраймування). Зміщення спарених основ на 5'-кінці дозволяє тривати синтезу до досягнення 5'-кі-

нця (Мал. 4.31, с). Далі структура зазнає перегруповання (Мал. 4.31, d), в результаті якого наново утворюється шпилька, що спочатку існувала на 5'-кінці батьківської ДНК, а також утворюється копія цієї шпильки на 3'-кінці комплементарного ланцюга, який служить праймером для продовження синтезу (Мал. 4.31, е). Надалі цикли перегруповання і зміщувального синтезу призводять до утворення тетрамерного спареного ланцюга (Мал. 4.31, f), і цей процес може тривати (Мал. 4.31, g). Сформовані конкатемери можуть служити інтермедіатами, з яких формується одноланцюгова вірусна ДНК. Розрізи здійснюються на 5'-кінці сайт-специфічним ферментом, який залишається прикріпленим до 5'-кінця. 3'-кінець з ОН-групою діє як праймер для зміщувального синтезу, який супроводить упаковку одноланцюгової ДНК у віріони.



**Мал. 4.31.** Схема реплікації ДНК парвовірусів. Чорним кольором позначені ланцюги батьківської ДНК, сірим – щойно синтезована ДНК, стрілками позначені 3'-кінці. Пояснення див. в тексті (за N. J. Dimmock et al., 2007).

Щойно зміщується і упаковується увесь геном, надмірний дочірній геном розщеплюється ендонуклеазами, що призводить до вивільнення вірусних часток.

Дефектні парвовіруси відрізняються тим, що мають термінальні послідовності шпильок, комплементарні одна іншій. В результаті цього 5'-кінці (+) і (-) ланцю-

гів є ідентичними, тому розрізання ДНК на 5'-кінці сайт-специфічним ферментом, зміщувальний синтез і упаковка в капсид проходитиме однаково для кожного ланцюга.

**Реплікація геномів вірусів, які містять РНК.** Реплікація РНК-геномів потребує активності РНК-залежної РНК-полімерази, яка повинна забезпечуватися вірусом. Впродовж процесу реплікації РНК вірусу, як і під час усіх інших процесах синтезу нуклеїнових кислот, ланцюг матриці прочитується полімеразою у напрямі  $3' \rightarrow 5'$ , тоді як ланцюг, що синтезується, починається з 5'-нуклеотиду і синтезується у напрямку до 3'-кінця. Більшість вірусів, що містять РНК, можуть реплікуватися у присутності інгібіторів синтезу ДНК, що свідчить про відсутність ДНК-інтермедіатів. Проте ретровіруси використовують проміжний синтез ДНК.

РНК-залежні РНК-полімерази, кодовані вірусом, повинні транспортуватися в клітину або одночасно з вірусною часткою, або синтезуватися незабаром після зараження. Вірусні РНК-залежні РНК-полімерази часто називають «репліказами», щоб відрізнити їх від РНК-полімераз, задіяних в процесі транскрипції. Проте обидва ці процеси виконуються тими самими ферментами, які на різних етапах інфекційного циклу можуть проявляти різні синтетичні активності (можливо після певної модифікації молекули).

РНК-геноми вірусів можуть бути одноланцюговими і дволанцюговими, і одноланцюгові можуть містити (+) і (-)РНК. Молекули РНК, які є вірусним геномом, існують як лінійні молекули, хоча у таких інфекційних агентів, як віроїди, геномна РНК замкнена в кільце.

Особливістю багатьох вірусів, які містять РНК, є те, що їх геном складається з множинних сегментів, аналогічно хромосомам клітини-хазяїна. З цієї причини зріла вірусна частка повинна містити принаймні одну копію кожного сегменту, щоб вона зберігала повню інфекційність. У вірусів, які містять ДНК, сегментація генома спостерігається у край рідко. Впродовж процесу реплікації, молекула РНК залишається лінійною, і ковалентний замкнені в кільце молекули не спостерігаються.

Усі ферменти, які беруть участь в синтезі РНК, вірусу або клітини-хазяїна, не здатні до так званого пруфрингу, тобто до виправлення помилок азотистих основ, які невірні спарувалися. В той же час потягом синтезу ДНК така перевірка відбувається. Відсутність пруфрингу означає, що РНК-геноми мутують набагато легше, ніж ДНК-геноми. Оцінки показують, що впродовж реплікації РНК помилки відбуваються з частотою від  $10^{-3}$  до  $10^{-5}$  на одну азотисту основу на одну подію реплікації генома. Інакше кажучи, в середньому відбувається одна мутація на 1000-100000 нуклеотидів на одну подію реплікації генома. Це набагато вище, ніж у ДНК-геномів. З цієї причини еволюція РНК-вірусів відбувається набагато швидше, ніж еволюція ДНК-вірусів. Висока імовірність мутацій також ймовірно

накладає обмеження на розмір РНК-генома, оскільки за умови його збільшення збільшується імовірність мутацій в критичних частинах генома.

**Регуляторні елементи синтезу вірусного РНК-генома.** В процесі реплікації усіх РНК-вірусів деякі особливості є загальними. Для синтезу точної копії генома, РНК-залежні РНК-полімерази повинні починати синтез з 3'-термінального нуклеотиду матричного ланцюга. Тому 3'-конец повинен містити сигнал ініціації синтезу.

Як витікає з принципів, на підставі яких побудована класифікація Д. Балтімора, усі віруси з РНК-геномами повинні реплікуватися через проміжну дволанцюгову РНК. Наприклад, вірус з одноланцюговою геномною РНК повинен утворювати дволанцюговий проміжний продукт за допомогою синтезу «антигеномного» ланцюга комплементарної РНК. Цей «антигеномний» ланцюг, у свою чергу, має бути використаний як матриця для синтезу дочірніх геномів, які будуть упаковані у вірусні частки. Як і з початковим ланцюгом, синтез повинен розпочинатися з термінального 3'-нуклеотида, щоб синтезувати геном повної довжини. Таким чином, цей «антигеномний» ланцюг РНК також повинен містити сигнал початку синтезу для полімерази. Для більшості вірусів механізм ініціації синтезу РНК погано зрозумілий. Проте, останніми роками були встановлені регуляторні елементи на кінцях РНК, які направляють синтез РНК.

У деяких РНК-вірусів послідовності на кінцях генома майже повністю комплементарні одна іншій, тобто є інвертованими повторами. У такому випадку 3'-кінці ланцюгів генома і «антигенома» будуть практично однаковими, тобто містити одні і ті ж послідовності, що ініціюють синтез РНК. У вірусів, у яких немає термінальних інвертованих повторів, ініціація синтезу геномної і «антигеномної» молекул повинна контролюватися різними механізмами.

В деяких випадках між кінцями РНК-геномів спостерігаються відмінності. Так, до 5'-кінця може бути ковалентний прикріплений білок, що спостерігається у пікорнавірусів, і довгий полі(А) хвіст на 3'-кінці багатьох (+)РНК геномів, як це спостерігається у пікорнавірусів, альфавірусів, флавівірусів і коронавірусів.

(+) РНК-геномні віруси, які належать до ретровірусів (клас VI по системі Д. Балтімора) в процесі реплікації на матриці РНК синтезують так звану провірусну ДНК за участю ферменту зворотної транскриптази. На цій ДНК надалі синтезуються нові геномні (+)РНК вірусів. Подробиці реплікації цих вірусів будуть розглянуті нижче.

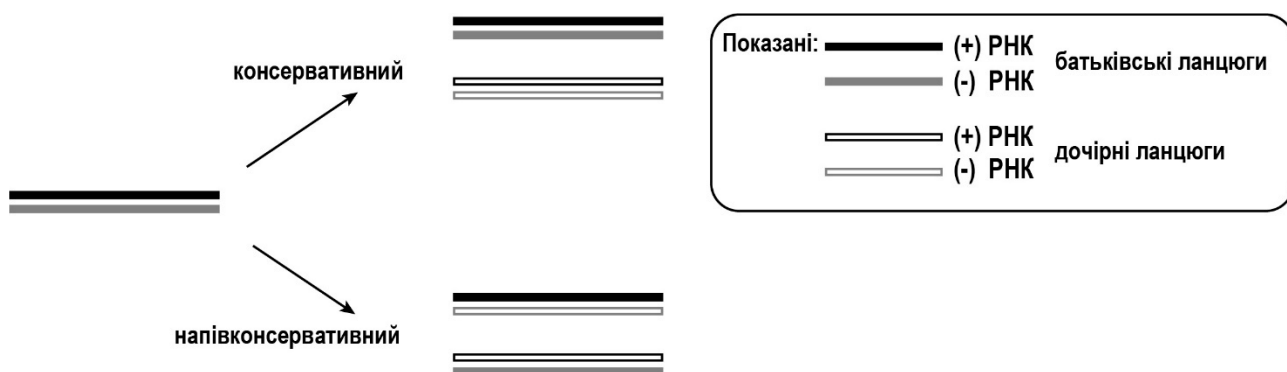
**Реплікація геномів вірусів, представлених дволанцюговою РНК (клас 3 за класифікацією Д. Балтімора).** Віруси класу три у своєму геномі містять множинні сегменти длРНК. Наприклад, у реовірусів геном складається з 10 сегментів, кожен з яких реплікується незалежно від іншого. За аналогією з реплікацією ДНК, дволанцюгова РНК могла б бути синтезована напівконсервативним механізмом, протягом якого кожен ланцюг батьківської РНК утворював би дуплекс з комплементарним ланцюгом дочірньої РНК. Проте фактично реплікація генома,



представленого дволанцюговою РНК, виконується консервативно (Мал. 4.32), хоча є деякі виключення. Наприклад, реплікація длРНК бактеріофага ф6 (родина Cystoviridae) реплікується напівконсервативно.

Проблема, з якою стикаються віруси, що мають у геномі дволанцюгову РНК, полягає в тому, що длРНК є потужним потенційним індуктором низки клітинних захисних механізмів, які включають глушіння (сайленсинг) РНК, утворення інтерферону і запрограмовану загибель клітин. Більшість длРНК-геномних вірусів вирішують цю проблему таким чином, що вірусна дволанцюгова РНК завжди оточена білками вірусу у субвірусних частках і ніколи не виявляється у вільному вигляді у цитоплазмі, де вона могла б викликати імунні реакції.

Після зараження клітини, декілька білків віріона реовірусів видаляються протеазами в процесі роздягання капсиду з формуванням субвірусних часток, які виявляються в цитоплазмі, де відбувається реплікація. Дволанцюговий РНК-геном залишається усередині субвірусних часток і не покидає їх впродовж циклу реплікації. Єдиною РНК вірусу, знайденою в цитоплазмі поза зв'язком з субвірусними частками, є мРНК. Ця РНК синтезується в процесі транскрипції, здійснюванім пов'язаною з вірусними частками РНК-залежною РНК-полімеразою.



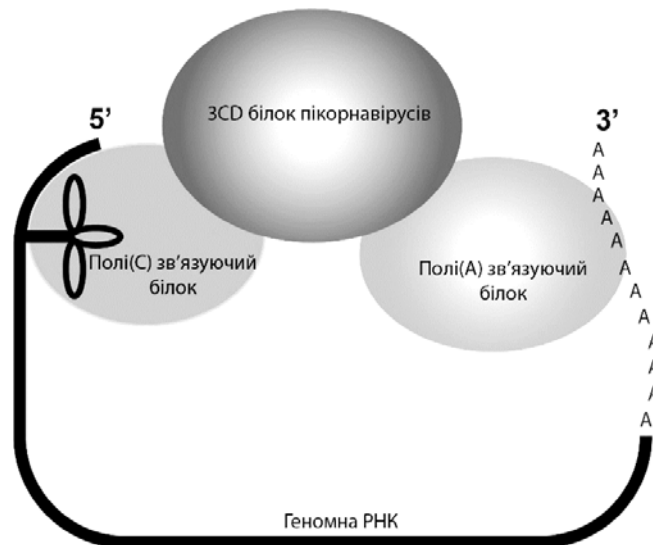
**Мал. 4.32.** Консервативна і напівконсервативна реплікація дволанцюгової РНК.

Оскільки обидва ланцюги вихідної батьківської РНК залишаються в субвірусній частці, очевидно, що транскрипти одноланцюгової мРНК служать єдиними носіями в передачі генетичної інформації потомству. Це означає, що тільки одна нитка кожного з 10 геномних сегментів використовується як матриця для синтезу РНК, і ця знову синтезована РНК далі реплікується з утворенням нових сегментів геномної дволанцюгової РНК. Наново синтезована (–)РНК виявляється тільки в комплексі з незрілими вірусними частками як частина дволанцюгової РНК і ніколи не виявляється в клітині у вільному стані. Кожна частка містить єдину копію кожного з 10 сегментів генома реовірусів. Механізм, за допомогою якого у віріон специфічно упаковується по одному з 10 сегментів, залишається незрозумілим.

**Реплікація геномів вірусів, представлених одноланцюговою (+)РНК (клас 4 за класифікацією Д. Балтімора).** У таких деталях циклів реплікації вірусів, які належать до класу 4 в класифікації Балтімора, як експресія генів або збирання вірусних часток, є значна різноманітність, проте процеси реплікації їх (+)РНК-геномів дуже схожі. Основні деталі реплікації геномів цих вірусів були отримані з використанням пікорнавірусів. Фактично процеси, які використовують пікорнавіруси, використовують й інші віруси класу 4, з утворенням подібних проміжних продуктів *in vivo* та *in vitro*.

Після зараження, геномна РНК вірусу повинна служити матрицею для трансляції і транскрипції. Ця РНК має полі(А) хвіст на 3'-кінці і невеликий білок, що складається з 22 амінокислот, названий VPg, на 5'-кінці. Цей прикріплений до РНК білок мають тільки пікорнавіруси. Трансляція є необхідним першим кроком інфекційного циклу, в результаті її синтезується РНК-залежна-РНК-полімераза, яка синтезуватиме нові геноми. Реплікація відбувається на гладких цитоплазматичних мембранах в реплікаційних комплексах. Як передбачає схема Балтімора, реплікація включає утворення інтермедіата у вигляді дволанцюгової РНК. Ініціація реплікації відбувається на 3'-кінці (+)РНК, який містить полі(А) хвіст, наявність якого є істотною для реплікації.

Особливістю реплікації пікорнавірусів є те, що геномна РНК утворює форму кола за рахунок дії білків клітини і вірусу (Мал. 4.33).



**Мал. 4.33.** Замикання у коло геномної РНК пікорнавірусів підчас утворення реплікаційного комплексу.

Клітини містять білок, який зв'язує полі(А) і грає роль у трансляції. Цей білок зв'язується з 3'-кінцем геномної РНК пікорнавірусу. Другий білок має спорідненість до полі(С) ділянок у РНК і зв'язується з геномною РНК вірусу біля 5'-кінця. Цей регіон, багатий залишками піримідину, утворює складну тривимірну структуру, яку називають листям конюшини. Третім білком у комплексі є кодований

пікорнавірусом 3CD білок, попередник РНК-залежної РНК-полімерази, яка активується протеолітичним розрізанням. Таким чином полімераза розташовується біля 3'-кінця генома, де повинна початися реплікація. Залишається невідомим, чи утворюють інші віруси класу 4 за Д. Балтімором кола підчас реплікації аналогічним чином і чи є це необхідною попередньою умовою реплікації.

Процес ініціації реплікації РНК пікорнавірусів залишається неясним, також залишається невідомим, яким чином білок VPg виявляється прикріпленим до 5'-кінців наново синтезованих РНК. Одна з можливостей полягає в тому, що приєднання VPg та ініціювання синтезу РНК пов'язані. Якщо це так, це, мабуть, відбувається підчас ініціювання синтезу як позитивного, так і негативного ланцюга, оскільки обидва ланцюги мають VPg на своїх 5'-кінцях. Після початку реплікації, полімераза проходить по усій довжині матриці РНК. Процес реплікації вимагає супутнього синтезу білка, оскільки додавання інгібіторів синтезу білка після початку реплікації інгібує подальшу реплікацію.

Аналіз вірусних РНК в заражених пікорнавірусами клітинах показує, що комплекси реплікації містять частково одноланцюгові РНК, і частково дволанцюгові РНК. (–)РНК виявляється тільки в комплексі з (+)РНК. Припускають, що спочатку (+)РНК використовується як матриця для синтезу комплементарної антигенної (–)РНК, яка на 5'-кінці має білок VPg. Ймовірно, ці два комплементарні ланцюги пов'язані слабо, можливо тільки в регіоні, де йде синтез. Тому протягом переміщення полімерази, 3'-кінець звільняється для наступного раунду реплікації, хоча попередня полімераза ще не досягла кінця матриці. Показано, що в один і той же час з РНК-матрицею пікорнавірусів можуть бути пов'язані до п'яти реплікаційних комплексів. Знову синтезована (–)РНК у свою чергу починає використовуватися як матриця для синтезу нових копій геномної РНК, у якій до 5'-кінця виявляється прикріпленим білок VPg.

Оскільки протягом реплікації утворюється набагато більше геномних (+)РНК, ніж (–)РНК, процес синтезу має бути зміщеним, асиметричним. Повністю синтезовані (+)РНК вивільняються з реплікаційного комплексу і або упаковуються у віріон, або використовуються як матриці для подальшої реплікації, або використовуються як мРНК для трансляції (і в такому випадку цьому втрачають білок VPg). За оцінками, у інфікованій поліовірусами клітині синтезується 2500 молекул РНК за хвилину. Вірус контролює процес синтезу РНК таким чином, що синтезується у 50 разів більше (+)РНК, ніж (–)РНК.

У інших вірусів 4 класу за класифікацією Балтімора, ніж пікорнавіруси, білок VPg відсутній. Реплікація синтезу РНК цих вірусів також ініціюється в 3'-кінці геномної або антигеномної РНК, і синтез також виконується в реплікаційних комплексах. Припускають, що реплікаційний процес в усіх випадках є схожим.

**Реплікація геномів вірусів, представлених одноланцюговою (–)РНК (клас 5 за класифікацією Д. Балтімора).** Віруси класу 5 розділяються на дві

групи – з геномом, представленим однією молекулою, і з сегментованим геномом. Деталі реплікації РНК вірусів класу 5 багато в чому не ясні, але вважають, що загальні закономірності однакові, незалежно від того, скільки молекул РНК входить в геном. Важливою особливістю реплікації усіх вірусів цього класу є наявність комплементарних послідовностей на кінцях геномної РНК. Оскільки (–)РНК не може безпосередньо транслюватися у білок, синтез РНК у вірусів цього класу може здійснюватися тільки за наявності РНК-залежною РНК-полімерази, яка є присутньою у вірусній частці.

*Реплікація несегментованого РНК-генома у рабдовірусів.* Найбільша кількість інформації є стосовно процесу реплікації у рабдовірусів, особливо для вірусу везикулярного стоматиту (ВВС). Сучасні дані показують, що пропонується для цих вірусів модель є загальною для багатьох інших вірусів цього класу.

Геномна (–)РНК і антигеномна (+)РНК, утворювана в результаті реплікації, у ВВС завжди тісно пов'язані з трьома білками вірусу в спіральному комплексі. Найбільш рясним є нуклеопротеїн (NP), в менших кількостях представлений фосфопротейн (Р), і тільки декількома молекулами представлений великий (L) білок. Білок L є каталітичним компонентом реплікаційного комплексу, проте для його активності потрібні також два інші білки. Цей комплекс здійснює як транскрипцію генома з утворенням мРНК, так і реплікацію геномної РНК. Залишається невідомим, як контролюється перемикання цього комплексу від одного виду активності до іншого.

Реплікація вірусів 5 класу вимагає безперервного синтезу білка. Отже, синтез вірусної мРНК і білка повинен відбуватися до настання реплікації. Як і в усіх випадках синтезу нуклеїнових кислот, реплікація починається на 3' кінці (–)РНК-матриці з утворенням (+)РНК. Завдяки наявності термінальних комплементарних послідовностей, на 3'-кінці цієї антигеномної РНК також є присутньою послідовність для зв'язування полімерази і ініціації транскрипції.

Усередині зараженої клітини часто спостерігаються округлі нуклеокапсиди, що вказує на взаємодію кінців РНК з утворенням фігури, подібній сковороді з ручкою. Утворення кільця може бути необхідним процесом для реплікації, хоча залишається неясним чому.

У перебігу реплікації полімераза ігнорує сигнали термінації синтезу мРНК, який є функціональним підчас транскрипції. Антигеномна РНК далі служить як матриця для синтезу геномної (–)РНК. Ці РНК виявляються в структурі нуклеокапсиду і можуть бути використані в нових циклах реплікації перед включення у вірусні частки. У зараженій клітині синтезується набагато більше геномної (–)РНК, ніж (+)РНК, таким чином процес реплікації є асиметричним.

*Реплікація сегментованого РНК-генома у ортоміксовірусів.* Як і попередня група вірусів з несегментованим геномом, у вірусів з сегментованим геномом сегменти також формують спіральні структури нуклеокапсидів. У вірусу грипу ос-

новним білком нуклеокапсиду також є нуклеопротейн NP. До складу нуклеокапсиду входять ще три білки - PA, PB1 і PB2. Кожен сегмент реплікується незалежно. Як і у випадку ВВС, білки нуклеокапсиду здійснюють як транскрипцію геномної РНК, так і її реплікацію, і залишається невідомим, які механізми контролюють перемикавання одного виду активності на інший.

При реплікації реплікаційний комплекс не реагує на сигнал зупинки транскрипції і поліаденілювання, і реплікація триває до кінця молекули. Синтезована (+)РНК, яка залишається в нуклеокапсидному комплексі, править за матрицю для синтезу геномної (-)РНК, яка у свою чергу може використовуватися для подальших раундів реплікації перед формуванням нових віріонів.

Механізм контролю включення сегментів генома протягом збирання вірусних часток залишається невідомим. Можливо, кожна вірусна частка може містити більше за одну копію кожного сегменту, що робить можливою рекомбінацію вірусного генома. Проте чи відбуваються подібні події *in vivo*, залишається неясним.

**Реплікація віроїдів.** Віроїди є збудниками багатьох досить шкідливих захворювань рослин. Їх геноми являють собою замкнені в кільце молекули РНК, які автономно реплікуються, механічно переносяться і мають розмір 246–399 нуклеотидів. Ця РНК, на відміну від геномів вірусів, не кодує ніяких білків<sup>1</sup>, тому для віроїдів не можна віднести геномну або комплементарну їй РНК до (+) або (-) типу. Проте та РНК, яка є присутньою в клітині в найбільшій кількості, за угодою умовно названа (+) сенсова РНК, хоча така термінологія у випадку віроїдів є умовною і не має загальноприйнятого значення.

РНК віроїдів не входить до складу віріонів і завжди є голою. Коли ця РНК потрапляє в клітину, вона реплікується білками клітини-хазяїна, оскільки, як зрозуміло, віроїди не кодують власну РНК-залежну РНК-полімеразу, як віруси з РНК-геномами. Залишається невідомим, яким чином ферменти хазяїна функціонують на РНК-матриці, але це може принаймні частково бути пов'язано із структурою генома віроїдів, значна частина якого має спарені нуклеотиди.

Віроїди класифікуються на дві родини, *Pospiviroidae* і *Avsunviroidae*, які різняться за деякими молекулярними особливостями і місцем реплікації. Характеристика двох родин віроїдів наведена у таблиці 4.2.

*Pospiviroidae* реплікуються в ядрі хазяїна, і віроїди цієї родини не здатні до саморозрізання, тоді як *Avsunviroidae* вірогідно реплікуються в хлоропластах і мають у своїй нуклеотидній послідовності структуру рибозима (так званого молоткового рибозима, *hammerhead ribozyme*), залученого у сайт-специфічне само-

---

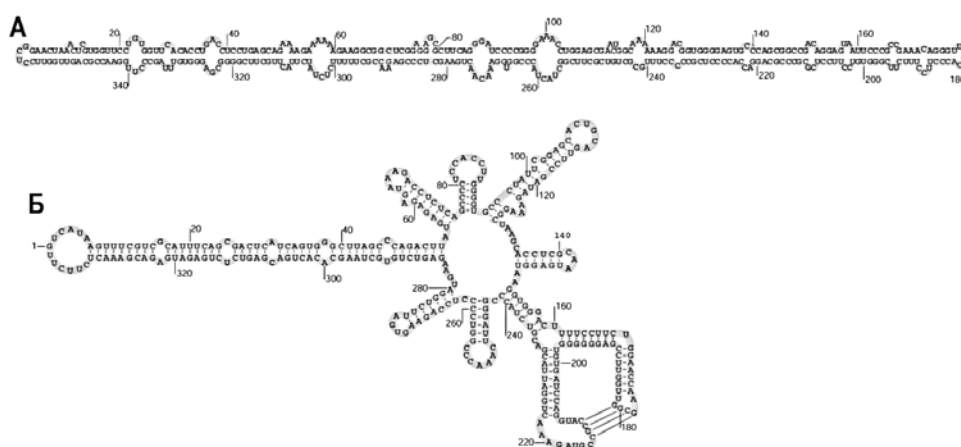
<sup>1</sup> До речі, цей дивний факт робить не зовсім зрозумілим, яким саме чином віроїди викликають хвороби у рослин. Вважають, що вони невідомо як втручаються у контроль експресії генів, зокрема пов'язаних з обігом фітогормонів. Припускають, що віроїди роблять це, викликаючи синтез рослиною специфічних малих інтерферуючих РНК (міРНК). Ці міРНК спричиняють сайленсинг мРНК генів, які контролюють синтез і сприйняття фітогормонів. Можливо, порушуються й інші метаболічні процеси.

розрізання РНК протягом реплікації. Віроїди мають або паличкоподібну вторинну структуру, або складаються у розгалужені вторинні структури (деякі представники *Avsunviroidae*) (Мал. 4.34).

Вивчення реплікації віроїдів призвело до відкриття досить незвичайних властивостей деяких ферментів клітини-хазяїна. Як передбачається, реплікація віроїдів відбувається відповідно до моделі кільця, що котиться (аналогічно реплікації замкненої в кільце ДНК, Мал. 4.25), з утворенням проміжних форм РНК.

Таблиця 4.1. Характеристика двох родин віроїдів.

	Родина <i>Pospiviroidae</i>	Родина <i>Avsunviroidae</i>
Представники	Віроїд веретеноподібності бульб, або готики, картоплі	Віроїд сонячного опіку авокадо
Центральний консервативний регіон	Присутній	Відсутній
Каталітична активність	Відсутня	Володіють активністю рибозима, який каталізує саморозрізання РНК віроїда
Місце реплікації у клітині рослини	Ядро	Пластиди, головним чином хлоропласти



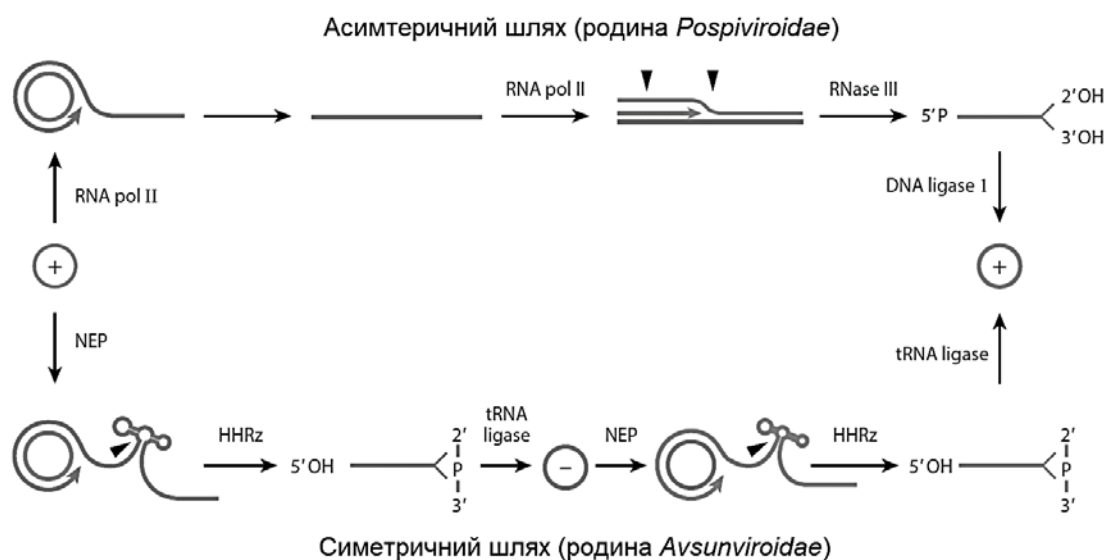
**Мал. 4.34.** Передбачувана вторинна структура віроїдів веретеноподібності бульб картоплі (А, родина *Pospiviroidae*) і латентної мозаїки персика (Б, родина *Avsunviroidae*). Наведено за <https://www.nature.com/articles/nrmicro736>.

Схема реплікації віроїдів наведена на Мал. 4.35. РНК-полімераза починає реплікацію в певній точці генома, хоча природа подій ініціації реплікації залишається невідомою.

У випадку родини *Pospiviroidae* реплікація відбувається через асиметричний шлях за участю чутливої до  $\alpha$ -аманітину ядерної ДНК-залежної РНК-полімерази II, яка незрозумілим чином у якості матриці використовує РНК. Процес реплікації на початковій стадії призводить до синтезу лінійної конкатемерної РНК, комплементарної інфекційній (+)РНК. Далі синтезується лінійний «плюс» ланцюг,

котрий потім за участі РНКазы III хазяїна розрізається на лінійні одноланцюгові РНК, які мають розмір генома. Ці лінійні фрагменти замикаються у коло ядерною ДНК-лігазою I, яка у цьому випадку діє на РНК-субстрат (тобто діє як РНК-лігаза).

Реплікація віроїдів родини *Avsunviroidae* відбувається через симетричний шлях за участю кодованої у ядрі ДНК-залежної РНК-полімерази пластид, яка знов-таки неясно чому у якості матриці використовує РНК. Як і у попередньому випадку, на початковій стадії синтезується лінійна конкатемерна РНК, комплементарна інфекційній (+)РНК. Далі ця РНК розрізається на фрагменти, комплементарні (+)РНК за рахунок активності молоткового рибозима. Ці фрагменти замикаються в коло під дією пластидної ізоформи тРНК-лігази. У подальшому ця замкнена в коло (-)РНК править за матрицю для синтезу лінійної конкатемерної (+)РНК знов-таки механізмом кільця, що котиться (чому цей шлях і має назву симетричного). Потім за рахунок дії молоткового рибозима ця РНК розрізається на фрагменти, що мають довжину генома, і ці фрагменти замикаються в коло тРНК-лігазою.



**Мал. 4.35.** Реплікація віроїдів асиметричним і симетричним шляхами. Сайти розщеплення показані стрілками. HHRz – молотковий рибозим; NEP – кодована ядерним геномом ДНК-полімераза пластид; RNA pol II – ДНК-залежна РНК-полімераза II; RNase III – РНКазы III (за R. Flores et.al., 2014).

**Реплікація вірусу гепатиту  $\delta$  (гепатиту дельта).** На відміну від віроїдів, які паразитують на рослинах, вірус гепатиту дельта паразитує на тваринах, зокрема на ссавцях. Цей вірус формально має (-)РНК-геном, найменший серед вірусів тварин, біля 1680 нуклеотидів. Але на відміну від інших вірусів з РНК-геномами, він не кодує РНК-залежної РНК-полімерази. У геномі вірусу закодовані два білка, великий і малий дельта-антигени, і обидва білки утворюються з єдиної комплементарної геному мРНК, яка редагується клітинними ферментами таким чином, що і утворюються два різних за розміром білка. Важливе те, що геномна

РНК цього вірусу виявляє подібність до віроїдів, зокрема замкнена в коло і складається у паличкоподібну структуру. Реплікація РНК вірусу відбувається в ядрі клітини-господаря за механізмом кільця, що котиться, аналогічно до реплікації віроїдів асиметричним шляхом, за участі ДНК-залежної РНК-полімерази клітини. На відміну від віроїдів родини *Pospiviroidae*, у яких конкатемерна лінійна РНК розрізається на мономери ферментом господаря (Мал. 4.35), РНК вірусу гепатиту  $\delta$  має структуру рибозима, який здійснює сайт-специфічне саморозрізання олігомерної РНК на мономери. Замикання мономерів у кільце здійснюється ДНК-лігазою. Геном вірусу гепатиту дельта реплікується автономно, але цей вірус є вірусом-сателітом (див. розділ 4.6) і не здатен до самостійного передавання. Вірусом-помічником у людини є вірус гепатиту В, який забезпечує віріон вірусу гепатиту дельта структурними білками для пакування у віріон. Геном вірусу гепатиту  $\delta$  взаємодіє з малим і великим дельта-антигенами, утворюючи нуклеокапсид, який у свою чергу є оточеним мембраною з білками вірусу гепатиту В. Утворена вірусні частка за зовнішнім виглядом не відрізняється від віріонів вірусу гепатиту В, хоча й має зовсім інший геном.

Таким чином, виявляючи свої надзвичайні паразитарні здібності, віроїди і вірус гепатиту дельта перепрограмують матричну специфічність ДНК-залежної РНК-полімерази для функціонування як РНК-залежної РНК-полімерази, і субстратну специфічність ДНК-лігази, яка починає функціонувати як РНК-лігаза.

**Реплікація РНК-вірусів через стадію ДНК і *vice versa*.** Низка вірусів в процесі реплікації міняє природу свого генетичного матеріалу з РНК-форми на ДНК-форму і навпаки. Спочатку можливість синтезу ДНК на матриці РНК сприймалася як ересь. Нині цей факт твердо встановлений, активно використовується в молекулярній біології. Виявилось, що значна частина генома ссавців, у тому числі і людини, сформувалася саме таким шляхом.

Процес синтезу ДНК на матриці РНК називається зворотною транскрипцією.

З використанням зворотної транскрипції реплікують свої геноми віруси класів 6 і 7 за Д. Балтімором, тобто на матриці РНК (яка є проміжним продуктом) синтезується геномна ДНК. Віруси класу 6, які часто звуть ретровірусами, мають геном, представлений (+)РНК, тоді як віруси класу 7 мають геном, який складається з частково дволанцюгової ДНК. Оскільки, як і ретровіруси, вони протягом реплікації генома використовують зворотну транскрипцію, їх часто називають параретровірусами.

Тут є важливе зауваження. Треба розуміти, що фактично, так би мовити, «справжнім» геномом, на якому відбувається транскрипція (синтез мРНК), у обох класів вірусів є ДНК. Так звана прегеномна РНК, хоча і є за складом мРНК (має кеп і поліА хвіст), являє собою тільки проміжний продукт реплікації, який пакується до віріона у ретровірусів, і існує в клітині тільки певний час у параретровірусів (Мал. 4.36).





*Мал. 4.36. Загальна схема циклу реплікації геномів вірусів за участі зворотної транскрипції.*

**Реплікація геномів ретровірусів.** Важливими представниками ретровірусів є вірус імунodefіциту людини, що викликав пандемію СНІДу, а також Т-лімфотропний вірус людини – ретровірус, який викликає такі злоякісні новоутворення лімфоїдної і кровотворної тканин, як Т-клітинний лейкоз і Т-клітинну лімфому у дорослих.

Віріони усіх ретровірусів містять дві ідентичні молекули одноланцюгової геномної РНК, які пов'язані одна з іншою. Інколи геноми ретровірусів через це називають диплоїдними, але це навряд чи виправдано, оскільки ці дві молекули є ідентичними і не містять домінантних чи рецесивних алелей. Ці РНК мають послідовність з (+) сенсом, також вони мають характерні особливості мРНК еукаріотів, наприклад структуру кепу на 5'-кінці і полі(А) хвіст на 3'-кінці. Незважаючи на це, геномні РНК ніколи не транслюються після попадання вірусу в клітину. Замість цього, вони використовуються як матриці для синтезу дволанцюгових молекул ДНК. Зворотна транскрипція відбувається в цитоплазмі усередині вірусної частки. Далі ДНК переміщається в ядро клітини хазяїна, де вона вбудовується в геном хазяїна. Цю ДНК називають провірусом. Далі на цій ДНК, що має вірусне походження, синтезуються молекули мРНК, які можуть або транслюватися, або упаковуватися у вигляді дочірніх геномів у вірусні частки.

Зворотна транскриптаза має три типу ферментативної активності. По-перше, вона здійснює зворотну транскрипцію, тобто синтез ДНК на матриці РНК. По-друге, вона є ДНК-залежною ДНК-полімеразою, тобто синтезує ДНК на ДНК-матриці. По-третє, вона є РНКазою Н, розщеплюючи ланцюг РНК в гібриді РНК:ДНК.

Як і інші ДНК-полімерази, зворотна транскриптаза вимагає РНК-праймера. Ретровіруси дуже цікаві в цьому стосунку, оскільки в ролі праймера використовують транспортну РНК хазяїна. Ця тРНК зв'язується за допомогою спаровування

азотистих основ з геномною РНК вірусу поблизу 5'-кінця. Кожен ретровірус містить у віріоні специфічний тип тРНК, наприклад вірус саркоми Рауса має триптофанову тРНК, вірус лейкемії мишей Молоні містить пролінову тРНК, а ВІЛ – лізинову тРНК. Залишається незрозумілим, як вибираються ці тРНК, але цілком імовірно, що важливим детермінантом вибору є сайт зв'язування тРНК в геномній РНК.

Зворотна транскриптаза потрапляє в клітину разом з віріоном. Зворотна транскрипція виконується без повного роздягання вірусного генома. Це пояснює зокрема той факт, що, попри те, що вірусний геном має усі особливості мРНК, він ніколи не транлюється: рибосоми хазяїна просто не мають до нього доступу.

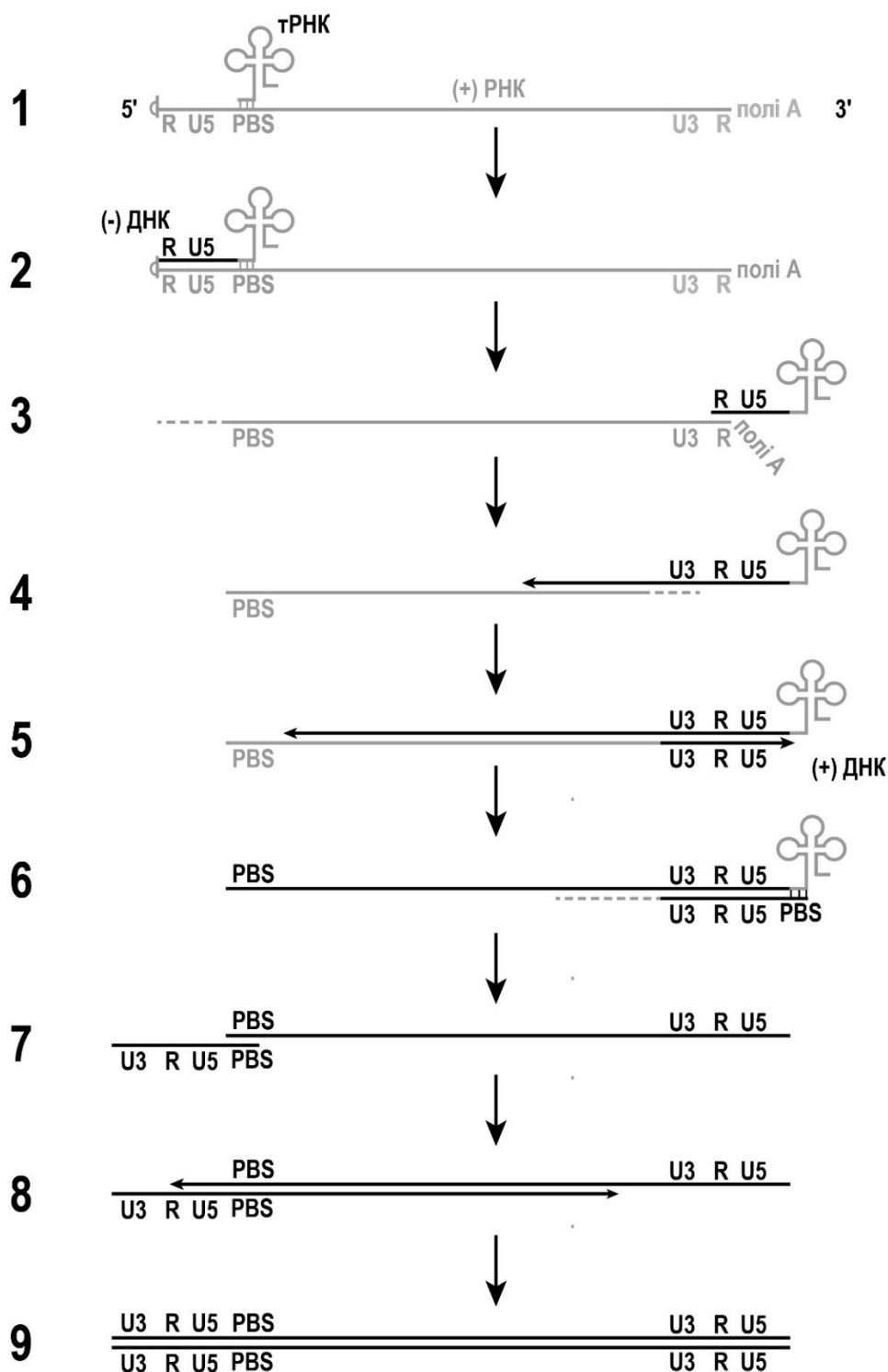
Процес зворотної транскрипції, наведений на Мал. 4.37, є складним і включає багато етапів з двома стрибками усього комплексу транскрипції.

Якщо порівняти послідовності геномної РНК вірусу і провірусної ДНК, яка на ній синтезується, то виявляється, що дві молекули не є точно колінеарними. Прямі повтори, які присутні на 5'- і 3'-кінцях геномної РНК і примикають до кепа і полі(А) хвоста, виявляються внутрішніми в молекулі провірусної ДНК. Інакше кажучи, ззовні них в дволанцюговій ДНК було додано додаткові послідовності. Причина цього лежить в механізмі зворотної транскрипції. Зрештою, ДНК провірусу на своїх кінцях має довгі кінцеві повтори (long terminal repeats, LTRs), які важливі для інтеграції вірусу в геном хазяїна і транскрипції (див. нижче).

*Інтеграція провірусної ДНК в геном клітини.* Провірусна ДНК синтезується в цитоплазмі у складі частково роздягненої вірусної частки. Ця ДНК далі мігрує в ядро клітини, де об'єднується з клітинною ДНК. Інтеграція вимагає наявності ще одного вірусного білка, що називається інтегразою. Цей білок міститься у вірусній частці і потрапляє в ядро разом з провірусом.

Після попадання в ядро ДНК провірусу переходить в кільцеву форму. Потім в місцях стику LTR виникає короткий інвертований повтор, що виконує функцію специфічної ділянки інтеграції. Ця ділянка пізнається вірусною ферментом-інтегразою, який вносить ступінчасті розриви в LTR і клітинній ДНК. Цей же фермент здійснює і з'єднання ланцюгів ДНК. Зрештою, інтеграція стає безповоротною.

Заражені клітини в типовому випадку містять від 1 до 20 копій інтегрованої провірусної ДНК. Для інтеграції в геномі хазяїна немає специфічного сайту, провірусна ДНК вбудовується випадково, хоча і є деякі переважні ділянки, зокрема регіони з активними генами. Вірусспецифічна ДНК реплікується разом з клітинною ДНК під час мітозу і передається в дочірні клітини. Власно кажучи, клітина вже не може її якось позбутися.



**Мал. 4.37.** Механізм зворотної транскрипції. РНК позначена сірим кольором, а ДНК чорним. 1. тРНК зв'язується з геномною (+)РНК, яка має кап на 5'-кінці і полі(А) хвіст на 3'-кінці, з допомогою сайту приєднання праймера (primer-binding site, PBS). 2. 3'-ОН група тРНК служить праймером для синтезу ДНК-копії 5'-кінця РНК. 3. РНКазою Н видаляється ланцюг РНК в дуплексі РНК:ДНК, потім відбувається перший стрибок: ДНК зв'язується з послідовністю повтору R на іншому кінці РНК. 4. Нарощування ланцюга ДНК і часткове видалення ланцюга РНК в дуплексі РНК:ДНК РНКазою Н. 5. Синтез 3'-кінця другого ланцюга ДНК. 6. Видалення ланцюга РНК РНКазою Н. 7. Другий стрибок: два ланцюги ДНК за рахунок спаровування комплементарних азотистих основ зв'язуються в сайті PBS. 8. Завершення синтезу обох ланцюгів ДНК. 9. Провірус, що складається з дволанцюгової ДНК. В результаті зворотної транскрипції утворюються молекули дволанцюгової ДНК з довгими (декілька сотень нуклеотидів) кінцевими повторами, що мають структуру U3RU5 (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

У більшості ретровірусів інтеграція може відбуватися тільки в клітинах, які зазнають ділення. Вважають, що це пов'язано з нездатністю комплексу ДНК провірусу з білками пройти через ядерну оболонку; руйнування ядерної оболонки у момент мітозу роблять хромосоми хазяїна доступним для інтеграції. Проте таке обмеження не поширюється, наприклад, на ВІЛ, оскільки до складу білків, пов'язаних з провірусною ДНК, входять білки, опосередковуючі транспорт в ядро. Тому ВІЛ може заражати клітини, що не починають ділитися.

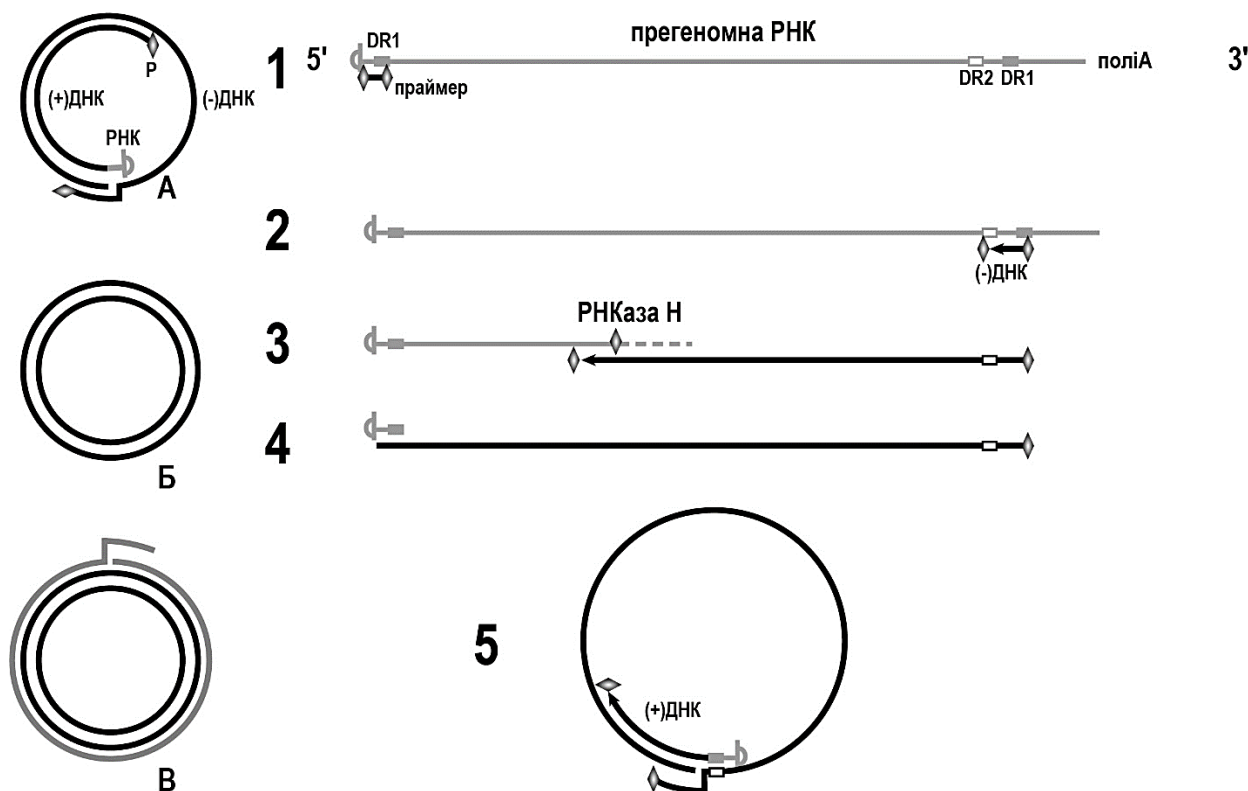
У більшості випадків події інтеграції ретровірусів відбуваються в соматичних клітинах. Проте в різні моменти еволюційної історії безперечно відбувалася інтеграція ретровірусів в статеві клітини людини та інших видів. Такі події привели до появи ендемічних ретровірусів, які поведуться як звичайні генні локуси. Більшість цих локусів несуть мутації, які запобігають утворенню на них вірусів. Проте іноді вони здатні почати продукувати вірусні частки за певних умов.

**Продуктування дочірніх геномів ретровірусів.** Нові РНК-геноми ретровірусів транскрибуються на інтегрованій провірусній ДНК. Цей процес в усіх аспектах подібний до утворення клітинних мРНК. Клітинна ДНК-залежна РНК-полімераза II транскрибує провірус, і первинний транскрипт кепується і поліаденілюється ферментами хазяїна.

Геноми потомства повинні точно відповідати батьківському геному, з якого був утворений провірус, інакше успішної реплікації вірусу не буде. Для того, щоб це сталося, транскрипція повинна початися точно в 5'-кінці елементу R лівобічного LTR (Мал. 4.29). Промотор РНК-полімерази II розташований зліва від точки старту транскрипції. Якби провірус був просто копією РНК-генома, то зліва від стартової точки транскрипції не було б ніякої кодованої вірусом послідовності, яка могла б служити промотором, і в цьому випадку транскрипція вірусної РНК залежала б від випадкового вбудовування безпосередньо біля якогонебудь промотора хазяїна. Це пояснює, чому утворення LTRs впродовж зворотної транскрипції настільки важливе. Завдяки лівій LTR кодована вірусом послідовність, U3, розташована зліва від необхідної точки початку транскрипції і вона і забезпечує необхідний промотор для початку транскрипції точно в 5'-кінці елементу R. Подібним чином, з іншого кінця генома сайт поліаденілювання повинен починатися точно на 3'-кінці елементу R правого LTR. Оскільки для визначення точної позиції сайту поліаденілювання важливі послідовності ліворуч і праворуч цього сайту, то праву послідовність забезпечує елемент U5. Таким чином, формування довгих термінальних послідовностей має ключове значення для правильної реплікації вірусної нуклеїнової кислоти.

**Реплікація геномів параретровірусів.** Важливим вірусом цієї групи є вірус гепатиту В людини, який належить до родини гепаднавірусів і викликає хронічне захворювання печінки і є однією з причин гепатоцелюлярної карциноми. На його прикладі розглянемо процес реплікації геномної ДНК більш детально.

Геном вірусу складається з частково дволанцюгової ДНК. Він представлений двома ланцюгами лінійної ДНК, які формують кільце за допомогою спаровування азотистих основ. Мінус ланцюг ДНК ковалентно пов'язаний з кодованим вірусом білком Р на 5'-кінці і утворює повне кільце, що перекривається. (+) Ланцюг ДНК перекриває 5'– 3' з'єднання (–)ДНК і грає роль клейкого кінця у формуванні геномного кільця; він завжди неповний (Мал. 4.38А).



**Мал. 4.38.** Механізм реплікації генома вірусу гепатиту В.

Ліворуч: А – геном вірусу; Б – формування дволанцюгового ДНК-генома в ядрі клітини; В – синтез прегеномної РНК, яка охоплює більш ніж довжину кола кругової матриці ДНК. Праворуч: 1...5 - етапи зворотної транскрипції. Пояснення див. в тексті. РНК позначена сірим кольором, ДНК – чорним. Літерою позначений білок Р (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Коли частка вірусу гепатиту В людину входить в клітину, геном транспортується в ядро, де білок Р видаляється, ДНК ковалентно замикається і добудовується з утворення дволанцюгового кільця (Мал. 4.38Б). На відміну від ретровірусів, геном гепаднавірусів не вбудовується в геном хазяїна перед транскрипцією.

Далі кільце ДНК транскрибується РНК-полімеразою II хазяїна. В процесі транскрипції утворюється низка мРНК, які виходять в цитоплазму. Серед цих РНК є один тип, який включається в дочірній капсид, так звана прегеномна РНК. Ця РНК має кінцеві повтори, оскільки охоплює більш ніж довжину кола кругової матриці, і кодує білок Р (Мал. 4.38 В). Цей білок є поліфункціональним, має активність зворотної транскриптази/ДНК-полімерази і РНКазы Н.

Після синтезу, білок Р взаємодіє із специфічною послідовністю, що примикає до 5'-кінця РНК, і опосередкує упаковку цієї прегеномної РНК у вірусну частку. Після цього починається синтез геномної ДНК в процесі зворотної транскрипції.

Термінальний домен білка Р служить як праймер для синтезу (–)ДНК за участю домену зворотної транскрипції. З цієї причини цей білок виявляється ковалентний пов'язаним з 5'-кінцем геномної (–)ДНК. Після синтезу короткого фрагмента (–)ДНК (Мал. 4.38,1), цей фрагмент разом з білком Р переміщується на іншу копію повтору на 3'-кінці РНК, тобто відбувається перший стрибок полімерази під час зворотної транскрипції. Синтез ДНК триває, і у міру синтезу ДНК за рахунок активності РНКаз Н руйнується матриця РНК (Мал. 4.38, 2-4). Специфічний олігонуклеотид РНК на крайньому 5'-кінці, який містить повтор DR1, уникає руйнування. Він переноситься на другий повтор, DR2, біля 5'-конца синтезованої (–)ДНК, де служить праймером для синтезу короткої послідовності (+)ДНК на 5'-кінці матриці. Для продовження синтезу потрібний другий стрибок. Синтезований фрагмент (+) ДНК, що містить DR2, переходить на іншу копію DR1 на другому кінці матриці (–) ДНК (Мал. 4.38, 5), і синтез (+) ланцюга триває. Дуже незвичайним є те, що вірусна частка покидає клітину раніше, ніж завершується синтез другого ланцюга ДНК. Через вихід з клітини вірусній частці стають недоступними субстрати для синтезу ДНК, синтез (+) ланцюга припиняється, і в нормі вірусні частки містять тільки частково дволанцюгову ДНК.

**Інші віруси, що використовують стратегію зворотної транскрипції.** Використання зворотної транскрипції для реплікації генома не обмежується ретро- і гепаднавірусами. Таку стратегію використовують також каулімовіруси, які вражають рослини, наприклад вірус мозаїки цвітної капусти. Подібно до вірусу гепатиту В людини, цей вірус має геном у вигляді кільцевої дволанцюгової ДНК, в якому є повний, але такий, що містить розрив (–) ланцюг, і неповний (+) ланцюг. Проте, аналогічно до ретровірусів і на відміну від вірусу гепатиту В, праймером для синтезу (–)ДНК служить транспортна РНК клітини хазяїна.

#### 4.5. Збирання (морфогенез) вірусних часток і вихід віріонів з клітини

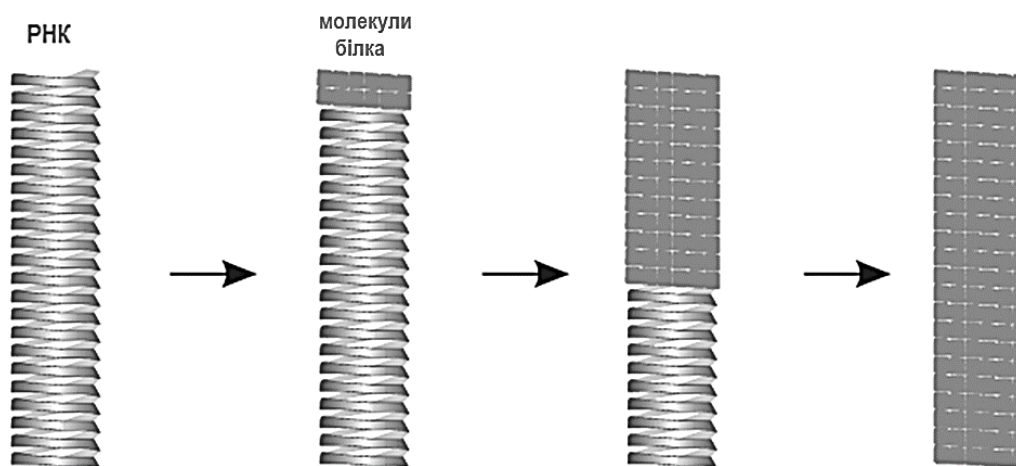
Як було зазначено раніше, віріони є метастабільними. З одного боку, вони повинні являти собою стабільні структури, які зберігаються в навколишньому оточенні як інфекційні одиниці. З іншого боку, протягом зараженні клітини віріони повинні поводитися як нестабільні структури, щоб геном вірусу міг вивільнятися. Тобто, віріон повинен мати вбудований «перемикач», який зобов'язаний здійснювати перехід від стабільності до нестабільності, коли вірус опиняється у відповідному оточенні. «Пусковим сигналом», який викликає таке перемикання, може бути зв'язування віріона з рецептором на поверхні клітини і/або зміни в концентрації протонів або інших іонів.

Після накопичення в інфікованій клітині певних порогових кількостей вірусних геномів і структурних білків, може початися збирання віріонів, яке називають також морфогенезом вірусів. Структурні компоненти збираються в нуклеокапсид. Якщо віріон містить ліпіди, то в процесі зборки додаються і ці компоненти, або як внутрішня мембрана, або як оболонка.

**Збирання спіральних нуклеокапсидів.** Збирання віріонів і нуклеокапсидів, що мають спіральну симетрію, включає утворення оболонки генома з множинних копій білка (Мал. 4.39).

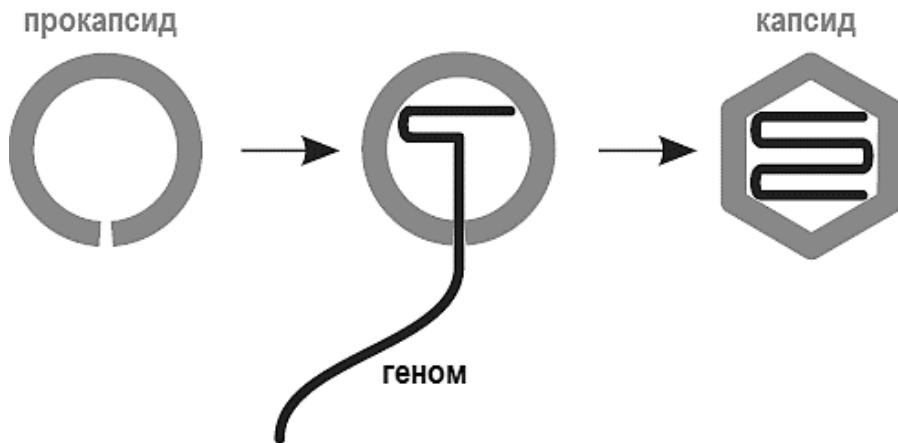
Процес розпочинається з прикріплення декількох молекул білка до одноланцюгової спіральної молекули РНК; далі приєднуються усе нові білкові субодиниці, поки РНК не виявиться повністю покритою білковою оболонкою.

**Збирання ікосаедричних капсидів.** Збирання віріонів і нуклеокапсидів багатьох вірусів, що мають ікосаедричну симетрію, включає утворення порожньої білкової оболонки, званої прокапсидом або проголовкою у випадку структури голівка-хвіст бактеріофага. Далі прокапсид заповнюється копією генома вірусу, і впродовж цього процесу або після нього він може зазнати модифікацію з формуванням зрілого капсиду. Модифікація прокапсиду може мати результатом зміну форми зі сферичної на ікосаедричну. Для деяких вірусів також показано, що модифікація прокапсиду включає ферментативне розрізання одного або декількох структурних білків.



*Мал. 4.39. Збирання нуклеокапсиду, що має спіральну структуру  
(за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).*

Геном входить в прокапсид через канал, розташований в ділянці, яка стане однією з вершин ікосаедра. У цій ділянці розташовані ті ферменти, які беруть участь в упаковці генома (Мал. 4.40).



*Мал. 4.39. Морфогенез нуклеокапсиду, що має ікосаедричну симетрію (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).*

Проголовки багатьох фагів, що мають хвіст, також мають вхід, через який входить копія генома вірусу. Крім того, цей вхід служить свого роду конектором, що сполучає хвіст з голівкою.

**Пакування генома.** У контексті упаковки вірусного генома, ключове питання звучить так: як вірус вибирає свій геном з усіх нуклеїнових кислот клітини і вірусу? Наприклад, в клітинах, заражених ретровірусами, вірусний геном складає менш одного відсотка усіх РНК. Проте фактично ретровіруси упаковують ряд РНК клітини, включаючи тРНК, які грають ключову роль в реплікації вірусів. Деякі інші віруси також упаковують нуклеїнові кислоти клітини, наприклад фаги іноді пакують ДНК хазяїна. Проте основна частина клітинних нуклеїнових кислот не упаковується.

Яким чином вірусам вдається проявляти таку вибірковість? Для деяких вірусів показано, що це досягається за допомогою вірусних білків, що специфічно зв'язуються з послідовностями геномів вірусу, відомими як сигнал упаковки. У геномів, представлених одним ланцюгом, сигнал упаковки є ділянкою з певною вторинною структурою. Віруси з одноланцюговими геномами як правило упаковують або плюс-ланцюг, або мінус-ланцюг; таким чином цей сигнал має бути присутнім тільки у ланцюга, який має бути упакований.

Важливим є те, що деякі копії вірусного генома не повинні пакуватися, оскільки служать як матриці для синтезу РНК, ДНК або білків. У таких копіях генома сигнал упаковки повинен якимсь чином маскуватися.

Геноми вірусів упаковуються в невеликі об'єми. Це означає, що відштовхування між негативно зарядженими фосфатними групами в їх геномах має бути здолане. Це може бути досягнутий розміщенням основних білків, що мають позитивний заряд, уздовж генома. У більшості випадків такі основні білки кодуються вірусами, проте папіломавіруси і поліомавіруси покривають свою ДНК гістонами клітини хазяїна.



Деякі віруси упаковують інші позитивно заряджені матеріали, наприклад поліаміни і катіони.

**Механізм збирання.** В умовах лабораторії віріони можуть розбиратися на складові молекули. Для деяких вірусів інфекційні віріони можуть знову збиратися з очищених компонентів (білків і нуклеїнових кислот) за відповідних умов рН у присутності певних іонів. Віруси, які здатні до подібного самозбирання, мають відносно просто влаштовані віріони, що складаються з нуклеїнової кислоти і одного або двох видів білків. Віруси, які здатні до самозбирання в пробірці, як вважають, також зазнають самозбирання в зараженій клітині. Прикладом таких вірусів є вірус тютюнової мозаїки, що має спіральну симетрію, і бактеріофаги з одноланцюгової РНК, що мають ікосаедричну симетрію. Самозбирання є економічним процесом, оскільки для морфогенезу не потрібно ніякої додаткової генетичної інформації.

Віріони вірусів, що мають складнішу структуру, типу герпесвірусів або бактеріофагів, що мають організацію голівка-хвіст, не можуть збиратися самі з очищених компонентів в пробірках. Для їх морфогенезу потрібні умови інфікованої клітини, і віріони будуються в процесі спрямованого збирання. Спрямоване збирання ікосаедричних вірусів може включати білки, які тимчасово є присутніми у віріоні під час його будування, але відсутні в зрілій частці. Ці білки відомі як каркасні білки (scaffolding proteins). Коли їх функція завершується, вони видаляються з прокапсиду. Деякі видаляються за допомогою протеолізу, інші залишаються інтактними і можуть бути використані повторно. Каркасні білки фагів, що мають хвіст, визначають розмір і форму голівки фага.

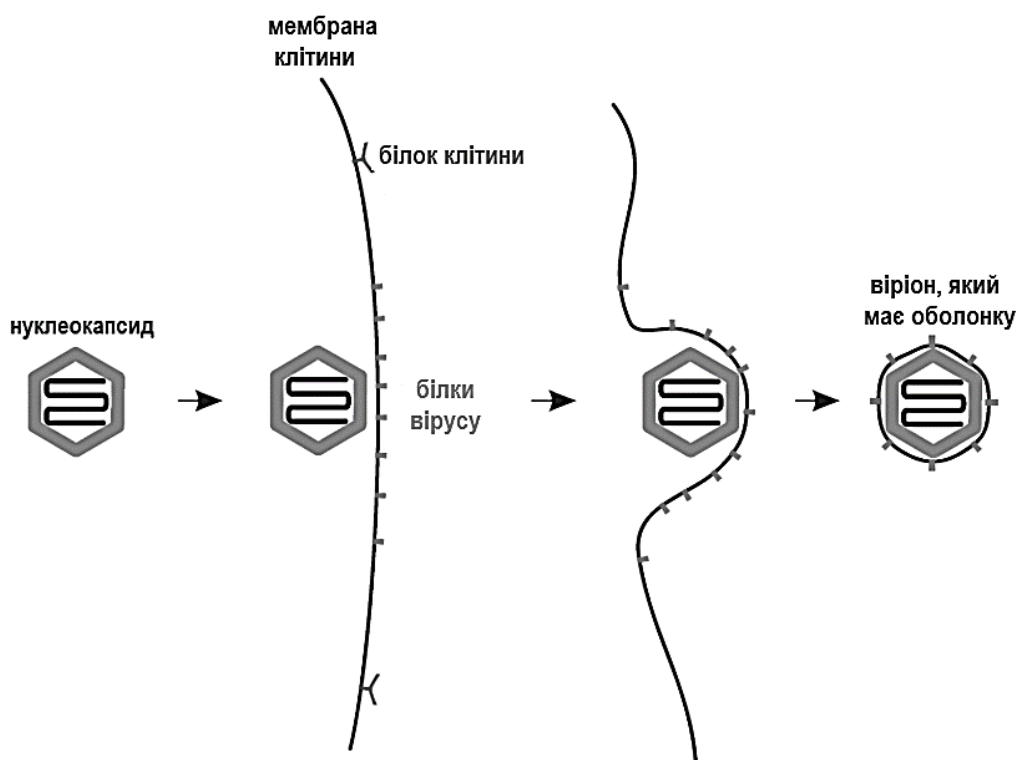
Деякі віруси кодують поліпротеїни, з яких окремі вірусні білки вивільняються протеазами. Багато таких білків використовуються в процесі збирання. Пікорнавіруси і ретровіруси являють собою дві групи вірусів, які використовують таку стратегію. Остаточне розрізання поліпротеїна пікорнавірусів відбувається після того, як копія генома входить в прокапсид. Внутрішня структура віріона ретровірусу формується з продуктів розщеплювання поліпротеїна на пізній стадії процесу зборки.

**Формування мембрани віріонів.** Віріони, що мають оболонку, придбавають її за допомогою одного з двох механізмів: або вони модифікують мембрану клітини хазяїна і отримують оболонку брунькуванням через неї, або вірус безпосередньо ініціює синтез нової мембрани навколо нуклеокапсиду.

**Відбруньковування від мембрани клітини.** Більшість оточених оболонкою вірусів придбавають оболонку за допомогою відбруньковування від мембрани клітини-хазяїна (Мал. 4.41). У вірусів, хазяями яких є клітини еукаріотів, ця мембрана часто є плазматичною мембраною. Регіон мембрани, через який брунькується вірус, модифікується за допомогою вбудовування одного або декількох видів білків вірусу, більшість яких є глікопротеїнами. Зазвичай інтегральні білки в ліпідному бішарі мають певну міру мобільності, оскільки вони «плавають в

морі» ліпідів. Проте в тих ділянках мембран, де накопичуються вірусні білки, білки клітини-хазяїна витісняються. Вірусні білки або якимсь чином відштовхують білки клітини, або вірусні білки мають високу спорідненість один до одного. Білки клітини можуть не повністю витіснятися з цих ділянок мембрани, і тоді вони включаються в оболонку вірусу, наприклад оболонка ВІЛ має білки класу II головного комплексу гістосумісності. Нуклеокапсиди, які повинні отримати оболонку брунькуванням, накопичуються у безпосередній близькості від ділянок мембрани, що містять білки вірусу.

Брунькування віріонів включає взаємодію між цитоплазматичними ділянками вірусного глікопротеїну в мембрані та іншим білком вірусу. У низки груп вірусів між нуклеокапсидом і оболонкою є шар білка М (мембрана, матрикс). Білки М мають спорідненість до мембрани, і зв'язують нуклеокапсид і глікопротеїни вірусів, «зшиваючи» їх впродовж брунькування. Роль, подібну білку М, грає білок М1 вірусу грипу А, і домен МА (матрикс) білка Gag ретровірусів.



**Мал. 4.40.** Одержання оболонки віріоном через брунькування. Вірусні мембранні білки, зазвичай глікопротеїни, вбудовуються в ділянку мембрани. Нуклеокапсид виводиться брунькуванням через мембрану, яка потім відшнуровується і формує оболонку (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Не усі віруси з оболонкою мають шар білка між оболонкою і нуклеокапсидом. У альфавірусів (до яких належить, наприклад, вірус жовтої лихоманки), поверхня нуклеокапсиду безпосередньо взаємодіє з цитоплазматичними ділянками глікопротеїнів мембрани.

Віруси, що брунькуються на плазматичній мембрані, брунькуються на певній ділянці плазматичної мембрани, і якщо клітина поляризована, брунькування відбувається переважно на одній поверхні. Поверхні тіла, наприклад дихальні шляхи, покриті клітинами епітелію, які є поляризованими. Кожна клітина має апікальну (зовнішню) і базолатеральну (внутрішню) поверхні, і багато вірусів переважно брунькуються на одній з цих поверхонь. Вірус грипу А брунькується майже виключно на апікальній поверхні, тоді як вірус везикулярного стоматиту брунькується виключно через базолатеральну поверхню. У експериментах, в яких гени білків оболонки цих вірусів експресували в клітинах, показали, що кожен білок має сигнал, який його направляє до поверхні, через яку брунькується відповідний вірус.

На завершальній стадії брунькування відбувається відшнурування мембрани і вивільнення віріонів, що наново сформувалися. Деякі дані вказують на те, що білки клітини зв'язуються з білками вірусу і відіграють важливу роль в цьому процесі.

Деякі віруси, що мають оболонку, брунькуються не на цитоплазматичній мембрані, а на інших мембранах клітини. Нуклеокапсид вірусу герпесу формується в ядрі, і починає свій шлях в цитоплазму за допомогою брунькування через внутрішню мембрану ядерної оболонки. Зрілий же віріон отримує оболонку в цитоплазмі за допомогою брунькування через мембрану везикул, що мають походження від комплексу Гольджі. Гепаднавіруси брунькуються через мембрану між ендоплазматичним ретикулюмом і комплексом Гольджі.

Один з небагатьох бактеріофагів, що мають оболонку, вірус L2 (родина Plasmaviridae) набуває оболонку за допомогою брунькування через клітинну мембрану свого хазяїна-мікоплазми.

**Синтез мембрани віріона de novo.** Меншість вірусів, що мають оболонку, самі направляють синтез ліпідної мембрани на пізній стадії циклу реплікації. В деяких випадках мембрана формує оболонку віріона (наприклад у поксвірусів), в інших випадках мембрана формує шар нижче поверхні капсиду (наприклад у ірідовірусів).

Бакуловіруси, які уражують безхребетних тварин, утворюють два типи оболонки віріона впродовж реплікації. Один тип віріонів задіяний в поширенні інфекції до інших клітин хазяїна, і віріони придбавають оболонку за допомогою брунькування через плазматичну мембрану. Інший тип віріонів призначений для зараження нового особини хазяїна. Оболонка таких віріонів закладається навкруги нуклеокапсидів усередині ядра клітини, і віріони виявляються вбудованими в так звані тільця включення.

Серед вірусів прокаріотів, фаг ф6 (родина Cystoviridae) придбаває свою оболонку в цитоплазмі. Ліпіди мають походження від мембрани клітини хазяїна, і віріони вивільняються за допомогою лізису клітин. Віріон фага PM2 (родина Corticoviridae) не має зовнішньої оболонки, але має мембрану між зовнішньою і

внутрішньою білковими оболонками. Мембрана синтезується в зараженій клітині.

#### 4.6. Вихід віріонів з інфікованої клітини

Віріони багатьох вірусів покидають інфіковану клітину, коли вона лізується (лопається). Цей процес може бути ініційований вірусом. Багато фагів продукують ферменти, які розривають зв'язки у пептидоглюкані клітинної стінки бактерій. Інші фаги продукують білки, які інгібують ферменти хазяїна, необхідні для синтезу клітинної стінки; усе це призводить до послаблення клітинної стінки і, врешті-решт, до лізису. Загальний вихід віріонів на одну заражену клітину значно варіює. Загальний вихід фага T4 (родина *Myoviridae*) складає 200 віріонів, тоді як вихід пікорнавірусів може досягати 100000.

Багато вірусів не викликають лізису клітин своїх хазяїв; дочірні віріони можуть вивільнятися з клітини впродовж певного періоду часу. Віріони багатьох вірусів відшнуровуються від плазматичної мембрани, не призводячи до її руйнування. Віріони, які придбають оболонку на внутрішніх мембранах клітини, покидають клітину іншими шляхами. Деякі транспортуються до поверхні клітини у везикулах, які зливаються з плазматичною мембраною і вивільняють віріони. Інші прикріплюються до моторних білків мікротрубочок і досягають поверхні клітини, через яку потім вивільняються.

Нитчасті фаги є вірусами без оболонки з унікальним механізмом для виходу з клітин своїх бактерій-хазяїв: виштовхування через поверхню клітин. Одноланцюгова ДНК такого фага укрита білком усередині клітини. Проте як тільки фаг виштовхується з клітини, він втрачає цей білок і придбаває капсид.

Після виходу з клітини, більшість віріонів залишаються інертними доти, поки не проникнуть в нову клітину. Проте є декілька випадків, коли віріони зазнають морфологічні зміни після виходу з клітини, оскільки їх дозрівання триває після виходу з клітини. Наприклад, у віріонах ретровірусів розрізання поліпротеїну починається в ході брунькування і завершується, коли віріон вже покинув клітину. Іншим прикладом є бактеріофаг археї *Acidianus convivator* (вірус належить до родини *Ampullaviridae*), що має незвичайну лимоноподібну форму. Два довгі хвости у цього фага розвиваються після виходу з клітини-хазяїна.

Віруси рослин мають відмінний спосіб передання, і фітопатогенні віруси покидають клітини рослин інакше, ніж віруси тварин і бактерій. Клітини рослин відокремлені одна від одної товстими клітинними стінками, які пронизані плазмодесмами. Віруси здатні поширюватися по рослині через плазмодесми. Для передавання на нового хазяїна, віруси рослин покидають попереднього хазяїна у вигляді їжі векторів (наприклад попелюх або нематод), які живляться вмістом уражених клітин.

#### 4.7. Дефектні вірусні частки. Помилки під час збирання віріонів

Під час взаємодії вірусу з клітиною можуть утворюватися не лише зрілі інфекційні частки, але і так звані дефектні віруси або вірусні частки з дефектним геномом.

Дефектний геном – це будь-який вірусний геном, в якому один або декілька генів втратили функцію, необхідну для автономної реплікації вірусу, у зв'язку з чим для реплікації потрібна допомога іншого вірусного генома або гена. Виділяють 5 класів дефектних вірусних геномів, які зберегли свою біологічну активність :

1. Дефектні геноми, залежні від вірусу-помічника.
2. Дефектні геноми, інтегровані в хромосому клітини хазяїна.
3. Псевдовіріони.
4. Умовно-дефектні геноми.
5. Віруси-сателіти і сателітні нуклеїнові кислоти (вірусоїди).

**Дефектні геноми, залежні від вірусу-помічника.** У цей клас входять так звані дефектні інтерферуючі частки, – ДІ-частки. Вони є делеційними мутантами, що втратили істотну частину генома батьківського вірусу. Делеція може досягати 90% генома, хоча виявлені делеції, що зачіпають лише 1% генома. Для відновлення втрачених функцій ДІ-частці потрібне одночасне зараження спорідненим вірусом-помічником (хелперним вірусом). Під час такої взаємодії, ДІ-частки інтерферують з вірусом-помічником, зазвичай пригнічуючи його реплікацію вірусу-помічника, оскільки використовують продукти його генів.

ДІ-частки утворюються протягом реплікації будь-якого вірусу, відрізняються розміром від нормального віріона і мають різний ступінь інтерференції. ДІ-частки, як очевидно, є спорідненими вірусу-помічникові (фактично вони є дефектним варіантом цього вірусу).

**Дефектні геноми, інтегровані в хромосому клітини хазяїна.** Факт інтеграції генома низки вірусів в геном клітини хазяїна нині не викликає сумніву. Проте інтегрувати можуть не лише повні, але і дефектні геноми, особливо в клітинах бактерій. Як правило, це дефектні гени, що «мовчать». У певних умовах вони можуть бути індуковані (активація, запуск реплікації) і їх експресія може впливати на виживаність і еволюцію клітини хазяїна. За умови індукції таких геномів вірусів бактерій за допомогою мітоміцину або ультрафіолету можна спостерігати утворення фрагментів вірусу: порожніх голівок, хвостових відростків, повних голівок без відростків. Індуковані частки фагів можуть викликати загибель чутливих до вірусу штамів бактерій. Також як і нормальні інтегровані геноми, інтегровані дефектні геноми можуть інактивувати гени клітини-хазяїна або сприяти їх експресії, надавати нові генетичні властивості, вводити, усувати або сприяти їх експресії, усувати або переміщати регуляторні елементи, а також сприяти рекомбінаційним змінам ДНК клітини хазяїна.

**Псевдовіріони.** Це вірусні частки, що містять замість геномної нуклеїнової кислоти вірусу, нуклеїнову кислоту клітини хазяїна. У прокаріотів утворення таких псевдовірусів має величезне генетичне значення і є механізмом переміщення генетичного матеріалу хазяїна з однієї клітини в іншу. У еукаріотів генетичне значення псевдовіріонів не встановлене, але їх утворення показане. Наприклад, під час інфікування поліомавірусами велика частка потомства, що утворюється, є псевдовіріонами.

**Умовно-дефектні геноми.** Це мутантні геноми, дефектні тільки в певних умовах, наприклад ts-мутанти (температуро-чутливі мутанти); hr-мутанти (мутанти по спектру хазяїв) тощо.

**Віруси-сателіти.** Вірус-сателіт у своїй реплікації повністю залежить від одночасного зараження клітини хазяїна вірусом-помічником (хелперним вірусом). Віруси-сателіти – це віруси, які, так би мовити, паразитують на генних продуктах, утворених іншими, неспорідненими вірусами. Вони поширені серед вірусів рослин, хоча трапляються і серед інших вірусів. Вони не здатні реплікуватися автономно, оскільки не кодують усіх потрібних білків, і для успішної реплікації повинно відбутися одночасне зараження клітини вірусом-помічником. Але віруси-сателіти самі кодують структурні білки, які потрібні для утворення капсиду.

Сателіти генетично відмінні від вірусів-помічників, і послідовності нуклеотидів в їх геномах значно відрізняються від послідовностей хелперного вірусу. Проте геноми більшості сателітів мають короткі послідовності, зазвичай на кінцях, які ідентичні певним послідовностям геному вірусу-помічника. Це ймовірно пов'язано з залежністю реплікації нуклеїнових кислот як сателіта, так і хелперного вірусу, від однакових вірусних полімераз і ферментів хазяїна.

Віруси-сателіти, як і сателітні нуклеїнові кислоти, не являють собою гомогенної таксономічної групи і формально не класифікуються на види і вищі таксони Міжнародним комітетом з таксономії вірусів.

Віруси-сателіти можуть інтерферувати з вірусом-помічником, як і як ДІ-частки, проте, на відміну від останніх, як зрозуміло, виникнення вірусів-сателітів не пов'язане з делецією генів вірусу-помічника. Тобто сателіт не є просто дефектним варіантом помічника, як ДІ-частка.

Прикладом вірусу-сателіту є вірус гепатиту дельта, про реплікацію якого йшлося на с. 102. Вірус дельта знайдений тільки в асоціації з вірусом гепатиту В (родина *Hepadnaviridae*), причому у присутності вірусу дельта вірулентність вірусу гепатиту В збільшується. Треба зауважити, що дельта-вірус, як було зазначено вище, нагадує віроїди і стоїть, так би мовити, трохи осторонь інших сателітів. Іншими прикладами вірусів-сателітів є STNV – сателіт вірусу некрозу тютюну, помічник – вірус некрозу тютюну (родина *Tombusviridae*); сателіт-коліфаг p4, помічник – коліфаг p2 (родина *Myoviridae*); AAV – аденоасоційовані віруси, помічник – аденовіруси.

**Сателітні нуклеїнові кислоти.** Зазвичай у підручниках з загальної вірусології сателітні нуклеїнові кислоти, які також називають вірусоїдами, не згадуються зовсім або згадуються дуже коротко. Але, на думку авторів, ці біологічні сутності є дуже цікавими і можуть як негативно, так і позитивно впливати на пристосованість вірусів, з якими вони асоційовані, і не тільки через інтерференцію, як віруси-сателіти.

Сателітні нуклеїнові кислоти, на відміну від вірусів-сателітів, кодують тільки неструктурні білки або не кодують білків зовсім. Вони можуть автономно реплікуватися, але для передавання іншим клітинам, для транспорту на великі відстані і для передавання за допомогою переносників вірусоїди пакуються до капсиду хелперного вірусу.

Сателітні нуклеїнові кислоти поділяють на декілька типів, і зокрема деякі кодують функції, необхідні для біологічного успіху хелперного вірусу. Цю групу інколи називають подібними до сателітів нуклеїновими кислотами (satellite-like nucleic acids). Загалом, вони нагадують частину геному хелперного вірусу, але їх виявляють не завжди у асоціації з вірусом-помічником.

Сателітні нуклеїнові кислоти асоційовані з вірусами рослин. Вони можуть являти собою одноланцюгові ДНК або дво- чи одноланцюгові РНК.

**ДНК-сателіти.** Сателітні одноланцюгові ДНК підрозділяють на дві групи: альфасателіти і бетасателіти.

*Альфасателіти.* Ці одноланцюгові замкнені в коло молекули асоційовані з вірусами роду *Begomovirus* (родина *Geminiviridae*) і родини *Nanoviridae*. Розмір становить близько 1,4 тис. нуклеотидів і 1 тис. пар нуклеотидів відповідно. Вони також містять інваріантний серед вірусів родини *Geminiviridae* мотив ТА(А/Г)ТАТТАС, відомий як нонануклеотидний мотив. Цей мотив потрібен для ініціації реплікації.

Альфасателіти кодують ініціаторний білок реплікації за механізмом кільця, що котиться (Rep). Цікаво, що цей білок має велику подібність до такого ж білка Rep, що кодується хелперними нановірусами. Альфасателіти здатні до автономної реплікації у клітинах господаря. Присутність альфасателітів під час зараження рослин хелперними вірусами зменшує прояв симптомів хвороби, що свідчить про можливу інтерференцію. Нещодавно було показано, що кодований альфасателітами білок Rep, принаймні у деяких випадках, пригнічує імунну відповідь рослини-господаря.

*Бетасателіти.* Бетасателіти являють собою замкнену в коло одноланцюгову ДНК розміром близько 1,3 тис. нуклеотидів. Вони асоційовані з вірусами роду *Begomovirus* (родина *Geminiviridae*). Усі бетасателіти мають нонануклеотидний мотив ТААТАТІАС. Також вони мають єдину консервативну рамку зчитування, яка кодує білок ВСІ. Цей білок є детермінантом патогенності і супресором імунної відповіді рослини-хазяїна. Таким чином, бетасателіти позитивно впливають на хелперний вірус, підсилюючи викликаний ним інфекційний процес.

**Дволанцюгові РНК-сателіти.** Більшість сателітних РНК цієї групи виявлені у асоціації з вірусами родин *Totiviridae* і *Partitiviridae*. Їх розмір варіює від 0,5 до 1,8 тис. пар нуклеотидів. Знаменно, що сателітні двРНК, асоційовані з тотівірусами, кодують препротоксин (preprotoxin), який є летальним до чутливих клітин, незалежно від того вільні ці клітини від вірусів або містять віруси без сателітної РНК. Але присутність сателітної РНК у культурі хелперного тотівірусу забезпечує самозахист від токсину і забезпечує вірусу-помічникові екологічну перевагу, тому що вбиває конкуруючі віруси або гриби. Сателітні длРНК, асоційовані з родиною *Partitiviridae*, не кодують функціональних білків і їх біологічне значення залишається невідомим.

**Великі лінійні одноланцюгові РНК.** До цієї категорії належать сателіти, які мають геном розміром від 0,8 до 1,5 тис. нуклеотидів і кодують неструктурний білок, який, принаймні у декількох випадках, потрібен для реплікації сателітної РНК. Деякі сателіти цього типу можуть бути асоційовані з декількома різними вірусами-помічниками. Сателіти майже не змінюють прояв симптомів захворювання, яке викликають хелперні віруси у родини-господаря. Більшість сателітних великих лінійних одноланцюгових РНК асоційовані з хелперними вірусами родини *Secoviridae*.

**Малі лінійні одноланцюгові РНК.** Ці сателіти мають геном менш ніж 0,7 тис. нуклеотидів і не кодують функціональних білків. Вони асоційовані переважно з вірусами *Tombusviridae* та *Bromoviridae*. Деякі сателіти цієї групи послаблюють симптоми захворювання, які хелперні віруси викликають у рослин, тоді як інші підсилюють симптоми.

**Малі замкнені в коло одноланцюгові сателітні РНК.** Ці асоційовані з вірусами рослин сателіти мають розмір близько 350 нуклеотидів і за структурою дуже нагадують віроїди, з якими вони можливо споріднені. Ці РНК не кодують білків, їх реплікація відбувається через механізм кільця, що котиться, і утворені олігомерні РНК розщеплюються за рахунок активності рибозима (як і у віроїдів родини *Avsunviroidae*). Але, на відміну від останніх, вони можуть володіти активністю не тільки молоткового рибозима, а й шпильчастого рибозима (hairpin ribozyme). Важливою відмінністю від віроїдів є те, що реплікація сателітних РНК цього типу залежить, принаймні частково, від кодованого хелперним вірусом РНК-репліказного комплексу.

**РНК, асоційовані з родом *Potyvirus* (родина *Luteoviridae*).** Ці одноланцюгові РНК мають геноми 2,8-3 тис. нуклеотидів і дві головних відкритих рамки зчитування. Друга рамка зчитування має класичний мотив РНК-залежної РНК-полімерази і транслюється через стоп-кодон першої рамки зчитування. У деяких членів цієї групи сателітних РНК маються додаткові рамки зчитування. Ці РНК здатні автономно реплікуватися, але потребують вірусу-помічника для передавання з допомогою переносників (попелиць). Деякі члени групи підсилюють симптоми захворювання, яке хелперний вірус викликає у рослин-господарів.



#### 4.8. Взаємодії між вірусами підчас змішаної інфекції

Як у природних, так і в експериментальних умовах одна клітина може бути заражена не одним, а декількома вірусами, це можуть бути або різні штами вірусу одного виду, або навіть віруси різних видів. Підчас такою змішаною інфекцією можуть мати місце різні форми взаємодії як між вірусними геномами, так і між продуктами генів вірусів.

При взаємодії геномів виникають їх зміни, які можуть успадковуватися; такі взаємодії у україно- і російськомовній літературі часто звуть генетичними. До них належать множинна реактивація, рекомбінація, пересортовування генів, крос-реактивація, гетерозиготність.

При взаємодії продуктів генів можуть мати місце фенотипічні зміни, але змін у геномах не відбувається. Відповідно, зміни не можуть успадковуватися. Такі взаємодії звуть негенетичними і до них належать комплементация, інтерференція, фенотипічне змішування і деякі інші.

**Взаємодії між геномами вірусів. Множинна реактивація.** Підчас зараження клітини в неї можуть проникнути декілька вірусних часток з пошкодженими геномами. Кожен з цих вірусів окремо не зміг би реплікуватися, проте цілком можлива ситуація, коли відсутній продукт гена, пошкодженого у одного віріона, доповнює відповідний неушкоджений ген іншого віріона. Підчас цього в зараженій клітині вірус успішно реплікується, утворюючи повноцінні неушкоджені віріони.

Це явище спочатку було виявлене у бактеріофагів і дістало назву множинної реактивації. У його основі лежить кооперативний процес, протягом якого віріони з пошкодженими геномами доповнюють один одного шляхом генетичної рекомбінації, внаслідок чого виникає неушкоджений вірусний геном. Ефективність множинної реактивації залежить від багатьох причин: ступеня ушкодження генома віріонів, кількості геномів та ін., що проникли в клітину.

**Рекомбінація.** Генетичною рекомбінацією називають обмін генетичним матеріалом між батьківськими вірусами. Рекомбінація можлива у вигляді обміну цілими генами (міжгенна рекомбінація) або ділянками одного і того ж гена (внутрішньогенна рекомбінація).

**Пересортовування генів.** Пересортовування генів є варіантом рекомбінації між вірусами, що мають сегментований геном. Форми вірусів, що утворюються шляхом пересортовування генів, називають реасортантами. Наприклад, з 1950-х років отримують реасортанти вірусу грипу, зокрема для отримання вакцини. Чи можуть бути реасортанти причиною пандемій, залишається дискусійним питанням.

**Перехресна реактивація.** Перехресна реактивація, або крос-реактивація, відбувається у випадку зараження клітини двома варіантами вірусів, коли один ва-

ріант має пошкоджений геном, а іншій повноцінний геном. Підчас змішаної інфекції між вірусами можлива рекомбінація неушкоджених ділянок генома вірусу з пошкодженим геномом і повноцінного вірусу. В результаті з'являються штами вірусів з властивостями обох батьків.

**Гетерозиготність.** Підчас спільного культивування декількох типів вірусів може відбуватися формування віріонів, що містять одночасно два різних геноми або принаймні один геном повністю, а другий – частково. Це явище назване гетерозиготністю. Уперше воно було знайдено у бактеріофагів. Проте така подія часто спостерігається і у вірусів тварин; більше того, у вірусів тварин, які мають оболонку і вивільняються з клітини брунькуванням, в одній оболонці часто виявляються декілька нуклеокапсидів. Такий вірус можна назвати поліплоїдним, а якщо геноми нуклеокапсидів походять від різних батьків, то це можна назвати гетероплоїдією. Слід зазначити, що можливість гетероплоїдії значно утрудняє генетичний аналіз вірусів, оскільки її результат практично неможливо відрізнити від рекомбінації.

**Взаємодії між генними продуктами вірусів. Комплементация.** Комплементация, або доповнення, є видом взаємодії між вірусами, підчас якої за умови спільного зараження клітини двома вірусами стимулюється репродукція одного або обох партнерів. Генотипи вірусів за умови такої взаємодії не змінюються, тобто не відбувається ніяких рекомбінацій. Суть комплементации полягає в тому, що один вірус забезпечує партнера відсутніми компонентами, зазвичай структурними або неструктурними білками.

Комплементация може бути двосторонньою і односторонньою. Підчас двосторонньої комплементации кожен з партнерів не здатний до самостійної реплікації, і тільки разом вони успішно реплікуються. Протягом односторонньої комплементации один з партнерів забезпечує іншого продуктом, якого недостає. Комплементация спостерігається як між спорідненими вірусами, так і між неспорідненими вірусами. Прикладом односторонньої комплементации за участю неспоріднених вірусів є реплікація вірусів-сателітів за присутності вірусу-помічника.

**Фенотипічне змішування.** Підчас спільного культивування двох вірусів може спостерігатися феномен фенотипічного змішування, коли потомство набуває фенотипічних ознак обох батьків, хоча змін генотипу не виникає. Зазвичай фенотипічне змішування може відбуватися між вірусами, що мають деякі загальні риси, наприклад структуру капсиду, або які розмножуються брунькуванням на одній і тій же мембрані хазяїна. Підчас цього, наприклад, геном одного вірусу може виявитися поміщений в капсид, що частково або повністю складається з білків іншого вірусу.

**Інтерференція вірусів.** Інтерференція вірусів – це тип взаємодії між вірусами, протягом якої спостерігається пригнічення репродукції одного вірусу іншим в клітинах, заражених двома вірусами. Проявляється інтерференція на різних ста-

діях вірусної інфекції і може бути обумовлена конкуренцією за клітинні рецептори, за ділянки реплікації нуклеїнової кислоти і трансляції, виснаженням метаболітів в клітині, індукцією інтерферону та іншими причинами.

Після ознайомлення з цим розділом ви повинні:

- розуміти особливості взаємодії віріонів вірусів з клітинними рецепторами
- знати механізми входу до клітин вірусів тварин і бактерій
- знати загальні механізми перебігу транскрипції і трансляції у клітинах еукаріотів і прокаріотів та особливості використання цих процесів вірусами
- знати загальні механізми реплікації ДНК в живих організмах і способи вирішення загально біологічної проблеми синтезу кінців лінійної ДНК підчас реплікації ДНК вірусів
- знати головні особливості реплікації РНК-геномів вірусів і віроїдів
- знати головні механізми взаємодії між геномами і генними продуктами вірусів підчас змішаної інфекції

#### Додаткове читання до розділу 4

1. Скулачев М.В. Внутренняя инициация трансляции – разнообразие механизмов и возможная роль в жизнедеятельности клетки // Успехи биол. химии. 2005. Т. 45. С. 123–172.
2. Beck J., Nassal M. Hepatitis B virus replication // World J. Gastroenterol. 2007. Vol. 13, N. 1. P. 48–64.
3. Crick F.H. On protein synthesis // Symp. Soc. Exp. Biol. 1958. Vol. 12. P. 138–163.
4. den Boon J.A., Diaz A., Ahlquist P. Cytoplasmic viral replication complexes // Cell Host Microbe. 2010. Vol. 8, N. 1. P. 77–85.
5. Flores, R., Gago-Zachert, S., Serra, P., Sanjuán, R., Elena, S. F. Viroids: survivors from the RNA world? // Annual review of microbiology. 2014. Vol. 68. P. 395–414.
6. Marsh M., Helenius A. Virus entry: open sesame // Cell. 2006. Vol. 124, N. 4. P. 729–740.
7. Mercer J., Schelhaas M., Helenius A. Virus entry by endocytosis // Annu. Rev. Biochem. – 2010. Vol. 79. P. 803–833.
8. Novoa R.R., Calderita G., Arranz R., Fontana J., Granzow H., Risco C. Virus factories: associations of cell organelles for viral replication and morphogenesis // Biol. Cell. 2005. Vol. 97, N. 2. P. 147–172.
9. Smith A.E., Helenius A. How viruses enter animal cells // Science. 2004. Vol. 304, №5668. P. 237–242.
10. Tsai B. Penetration of nonenveloped viruses into the cytoplasm // Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 2007. Vol. 23. P. 23–43.

## Розділ 5. Взаємодія вірусу з цілим організмом

### 5.1. Наслідки зараження вірусом хазяїна

У розділі 4 були обговорені аспекти циклу реплікації вірусів, який починається зараженням клітини і кульмінацією якого є вихід потомства вірусу з інфікованої клітини. Коли вірусна інфекція призводить до такого результату, вона називається **продуктивною** (від лат. *productivus* – розтяжний, плідний) (Мал. 5.1). Віріони вивільняються, коли клітина хазяїна зазнає лізису або клітина може залишитися живою і вивільняти віріони впродовж певного періоду, який може бути коротким, як у випадку ВІЛ, або тривалим, як у випадку гепатиту В.



Мал. 5.1. Можливі наслідки взаємодії вірусу з клітиною.

В деяких випадках результат вірусної інфекції не є продуктивним. Цьому може бути декілька причин:

- інфекція може стати **латентною** (від лат. *latentis* – прихований, невидимий), з геномом вірусу, що зберігається впродовж усього життя клітини-хазяїна і можливо навіть передається дочірнім клітинам під час ділення;
- інфекція може бути **абортивною** (від лат. *abortivus* – передчасний, недоношений), протягом якої не встановлюється ані продуктивна, ані латентна інфекція. Абортивна інфекція може спостерігатися, наприклад, коли вірус заражає клітини, які нездатні підтримувати його реплікацію. Одним з випадків абортивної інфекції є зараження клітини дефектним вірусом з геномом, що мутував. Такий вірус не здатний пройти в клітині повний цикл реплікації;

– внаслідок активації антивірусного захисту, в зараженій клітині може бути індукована **запрограмована загибель клітини**<sup>1</sup>, що, вочевидь, не дозволить вірусу завершити цикл реплікації.

Деякі віруси зберігаються в своїх хазяях впродовж тривалого часу, іноді усе життя. Таку вірусну інфекцію називають **персистентною** (лат. *persisto* – постійно перебувати, уперто триматися). В окремих випадках персистентна інфекція є продуктивною, наприклад підчас зараження ВІЛ; у інших випадках персистенція вірусу може набувати форми латентності, що змінюється формою продуктивності, як відбувається у випадку зараженнями вірусами герпесу. Тривале зараження деякими вірусами може призвести до розвитку ракової пухлини у хазяїна.

Деякі бактеріофаги, включаючи нитчасті фаги, ініціюють персистентну продуктивну інфекцію клітин їх бактерій-хазяїв. За сприятливих умов, клітини бактерій залишаються живими впродовж тривалого часу, виділяючи віріони.

Наслідок зараження вірусом з точки зору хазяїна може варіювати від нешкідливості на одному кінці шкали, через хвороботворну дію різного ступеня до загибелі хазяїна на іншому кінці шкали. Наслідок вірусної інфекції залежить від взаємодії різноманіття особливостей хазяїна, самого вірусу і чинників середовища.

В ході еволюції у організму, який є хазяїном для вірусу, розвивається антивірусний захист. Проте вірус також міняє свою тактику нападу. Взаємодія між вірусом і його хазяїном часто є тим, що називають гонкою озброєнь, і вірус виробляє свої контрзаходи проти захисту хазяїна.

## 5.2. Чинники, що впливають на результат вірусної інфекції

Основним чинником, що зачіпає результат зараження вірусами хребетних тварин, є ефективність імунної системи хазяїна. У тварин це стосується як природженого імунітету, так і адаптивного або набутого імунітету.

### **Природжений імунітет хребетних тварин**

**Інтерферони.** Інтерферони є білками, які синтезуються і виділяються клітинами у відповідь на зараження вірусами. Потужним стимулом для синтезу інтерферону є дволанцюгова РНК, яка утворюється протягом реплікації РНК-геномних вірусів. Роль інтерферонів полягає в захисті прилеглих клітин від зараження і активації обумовленого Т-клітинами імунітету. Відомо декілька типів інтерферонів, причому альфа- і бета- ( $\alpha$ - і  $\beta$ -) інтерферони синтезуються більшістю типів клітин підчас зараження вірусами (Мал. 5.2).

---

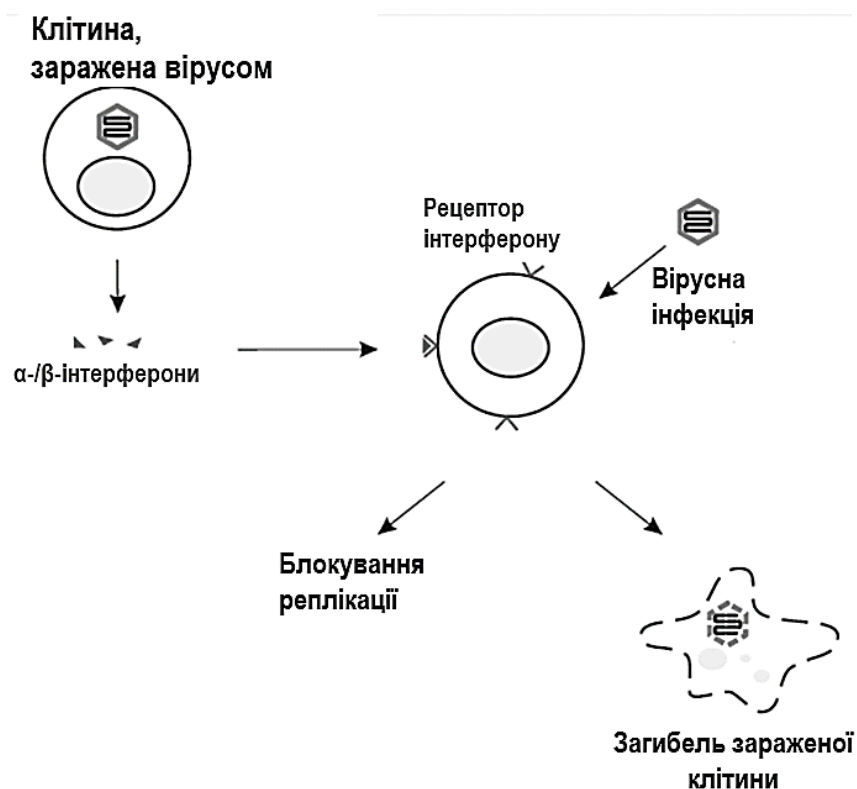
<sup>1</sup> У науковій літературі запрограмовану загибель клітин часто синонімізують з апоптозом. Але це не зовсім вірно, тому що зараз виявлено багато різних форм запрограмованої у геномі загибелі клітин, які дуже різняться за молекулярно-біохімічними механізмами і морфологічними ознаками. Апоптоз є тільки однією з форм; крім нього відомі некроптоз, піроптоз, автофагія тощо, і ці процеси можуть відігравати роль у протівірусному захисті. До того ж, у рослин запрограмована загибель клітин відома, а апоптоз не зустрічається.

Після виділення клітинами, що продукують їх, молекули інтерферону дифундують до сусідніх клітин, де вони запускають різні антивірусні реакції за допомогою зв'язування з рецепторами інтерферону.

До антивірусних реакцій, що запускаються  $\alpha$ - і  $\beta$ -інтерферонами, належать такі:

- активація генів, які кодують антивірусні білки, наприклад залежна від дволанцюгової РНК протеїнкіназу R і РНКазу L.
- стимуляція утворення молекул головного комплексу гістосумісності класу I і білків протеосом; ці молекули посилюють презентацію вірусних пептидів на поверхні заражених клітин Т-клітинам.
- активація клітин природних кілерів.
- індукція запрограмованої загибелі клітини.

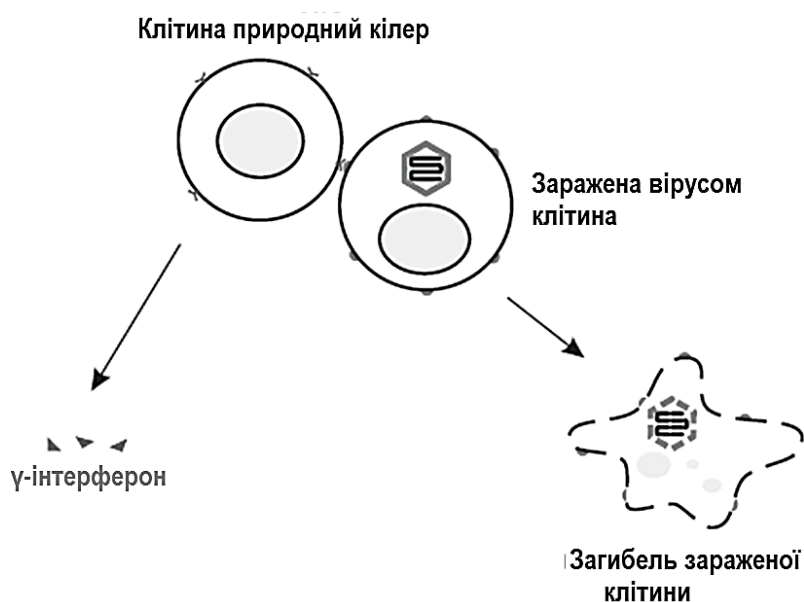
Ще один тип інтерферону, гамма- ( $\gamma$ -) інтерферон, продукується в основному Т-клітинами і клітинами природних кілерів, як реакція на різні молекули, що виділяються підчас імунної відповіді. Гамма-інтерферон викликає ряд ефектів, включаючи стимуляцію презентації антигена і активацію фагоцитів і клітин природних кілерів.



*Мал. 5.2. Активності  $\alpha$ - і  $\beta$ -інтерферонів (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).*

**Протидія вірусів дії інтерферонів.** Багато вірусів продукують білки, які інгібують або синтез інтерферонів, або їх активність. Наприклад, білок NS1 вірусу грипу А і білок NS3-4А вірусу гепатиту В блокують метаболічні шляхи, що беруть участь в синтезі інтерферону. Інші віруси, наприклад поліовіруси, запобігають синтезу інтерферону загальним блокуванням експресії генів клітини.

**Клітини природні кілери.** Клітини природні кілери присутніми по усьому організму, але головним чином трапляються в крові. Вони є окремим класом лімфоцитів, мають цитотоксичну дію проти пухлинних клітин і клітин, заражених вірусами. Природні кілери є одним з найважливіших компонентів клітинного природженого імунітету (Мал. 5.3).



**Мал. 5.3.** Активність клітин природних кілерів (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Природні кілери розпізнають зміни поверхневих молекул заражених вірусом клітин, які відбуваються в результаті зараження. На відміну від В- і Т-клітин, вони не розпізнають специфічні антигени. Після розпізнавання зараженої вірусом клітини як своєї мішені, природні кілери приєднуються до клітини і вбивають її.

Природні кілери вбивають клітину або виділяючи перфоріни, білки, які вбудовуються в мембрану зараженої вірусом клітини, утворюючи в ній отвори, що приводить до загибелі, або індують запрограмовану загибель. Також, після прикріплення до зараженої клітини, природні кілери виділяють  $\gamma$ -інтерферон.

**Протидія вірусів природним кілерам.** Прикладом є ВІЛ, присутність часток якого в крові змінює експресію низки молекул на поверхні клітин природних кілерів. Це знижує активність природних кілерів, включаючи їх здатність вбивати інфіковані вірусами клітини і виділяти  $\gamma$ -інтерферон.

**Білки APOBEC3.** Цей цікавий приклад імунної відповіді чомусь зазвичай не згадується у підручниках з вірусології. Білки APOBEC3 (apolipoprotein B mRNA-editing enzyme, catalytic polypeptide-like 3 proteins) є ферментами в клітинах людини і тварин, які втручаються в процес реплікації ретровірусів. Ці ферменти можуть індукувати летальні мутації за допомогою дезамінування дезоксицитидину, перетворюючи його на дезоксиуридин, в процесі зворотної транскрипції. Декілька з цих білків в клітинах людини можуть втручатися в реплікацію ВІЛ. Два з них, APOBEC3F і APOBEC3G, можуть включатися у віріони ВІЛ і поглинатися разом з вірусною часткою іншими клітинами, в яких вони повністю порушують реплікацію вірусу на стадії зворотної транскрипції.

**Протидія вірусів білкам APOBEC3.** У цитоплазмі заражених ВІЛ клітин білок вірусу *Vif* зв'язується з APOBEC3G, запускаючи його деградацію і запобігаючи включенню у віріон вірусу.

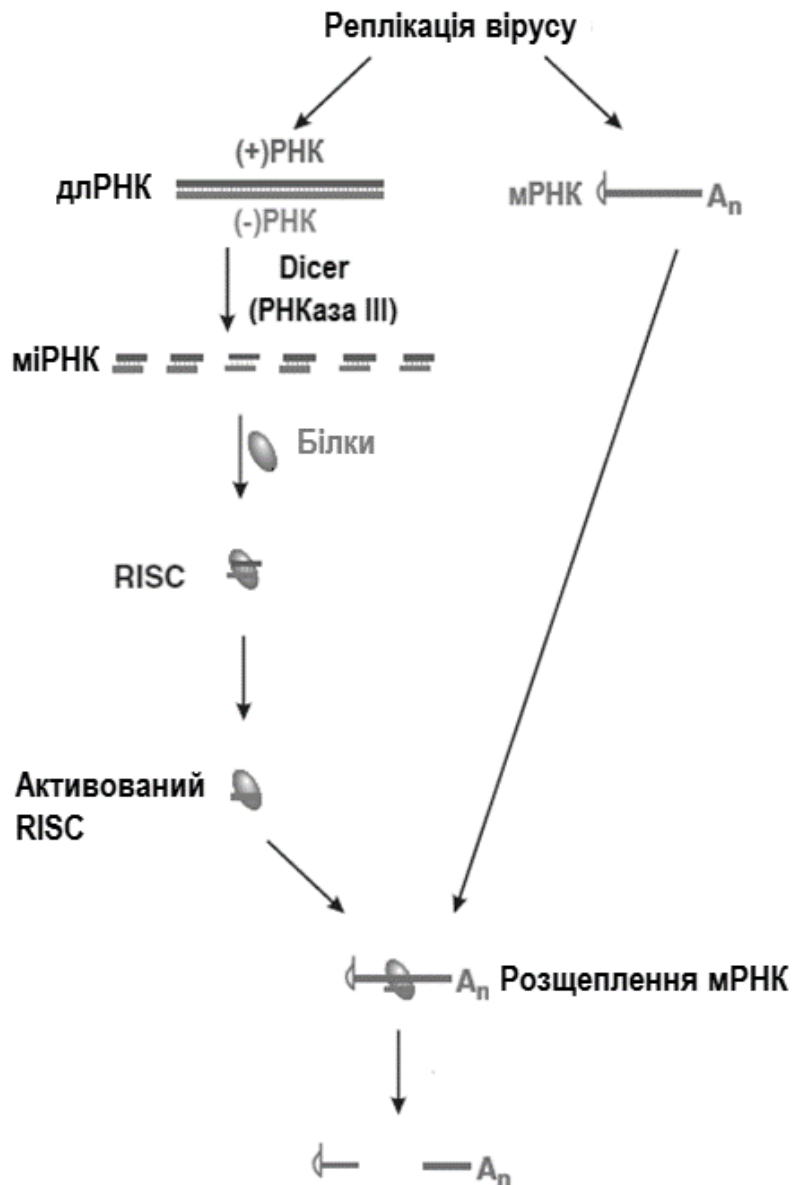
**Сайленсинг РНК.** Сайленсинг, тобто «приглушення» РНК (RNA silencing), також відоме як пост-транскрипційне глушення генів або інтерференція РНК, є внутрішньоклітинним процесом, який індукується дволанцюговою РНК. В результаті цього процесу руйнується матрична РНК, яка має таку ж послідовність нуклеотидів, як і ініціаторна длРНК. В результаті цього процесу руйнуються як мРНК вірусу, так і мРНК клітини (Мал. 5.4).

У цьому процесі дволанцюгова РНК розпізнається комплексом білків, до складу якого входить фермент, який дістав назву Dicer (від англ. dicer – машина для нарізання у формі кубиків). Цей фермент належить до родини РНКаз III і проявляє специфічність до дволанцюгової РНК, розрізаючи її на фрагменти довжиною 20–25 пар нуклеотидів. Ці фрагменти називають малі інтерферуєчі РНК (міРНК). Фрагмент міРНК з'єднується з певними білками цитоплазми, формуючі комплекс RISC (RNA-induced silencing complex). У цьому комплексі дволанцюгова міРНК розплітається, і (–) ланцюг залишається в комплексі, що активує цей комплекс. Мінус-ланцюг РНК в комплексі націлюється на мРНК на ділянку, що має комплементарні нуклеотиди, і далі в цьому регіону мРНК руйнується.

Сайленсинг РНК виявлено у рослин, грибів, хребетних і безхребетних тварин. У рослин він є важливим антивірусним механізмом; у грибів і тварин ймовірно



також. Слід зазначити, що окрім захисту від вірусів, сайленсинг РНК також бере участь у регуляції експресії власних генів організму, зокрема у процесі ембріогенезу.



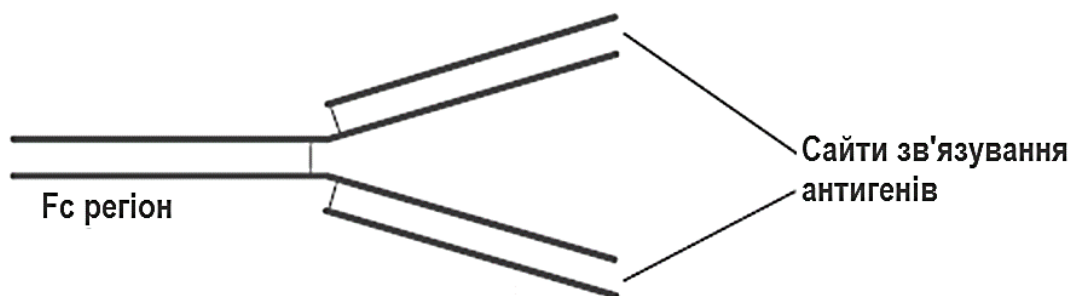
**Мал. 5.4.** Сайленсинг РНК. Дволанцюгова РНК розрізається РНКазой Dicer на міРНК, які зв'язуються з білками RISC. Активований комплекс RISC містить фрагменти мінус-ланцюга РНК, які направляють комплекс на специфічну мРНК. мРНК розщеплюється білками RISC (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

**Протидія вірусів сайленсінгу РНК.** Деякі віруси рослин кодують білки, які у той або іншим способом пригнічують цей процес.

**Набутий імунітет хребетних тварин.** Важливим наслідком зараження вірусом хребетних тварин є специфічна імунна відповідь, що запускається антигенами вірусу. Регіон антигена, що зветься епітопом, зв'язується із специфічним рецептором лімфоцита, активуючи каскад подій, які призводить до імунної відповіді.

Ключовими учасниками специфічної імунної відповіді є лімфоцити. Існують два класи лімфоцитів: В-лімфоцити (В-клітини), які розвиваються у фабрицієвій сумці птахів і кістковому мозку ссавців, і Т-лімфоцити (Т-клітини), які розвиваються у тимусі (вилочковій залозі). Кожен лімфоцит є специфічним для окремого епітопа завдяки присутності специфічного рецептора епітопа на поверхні клітини. Так звані наївні, або ненавчені лімфоцити ще не зустрілися зі своїм специфічним епітопом і мають поверхневі молекули і характер циркуляції в тілі, що відрізняються від лімфоцитів, які раніше зустріли свій епітоп.

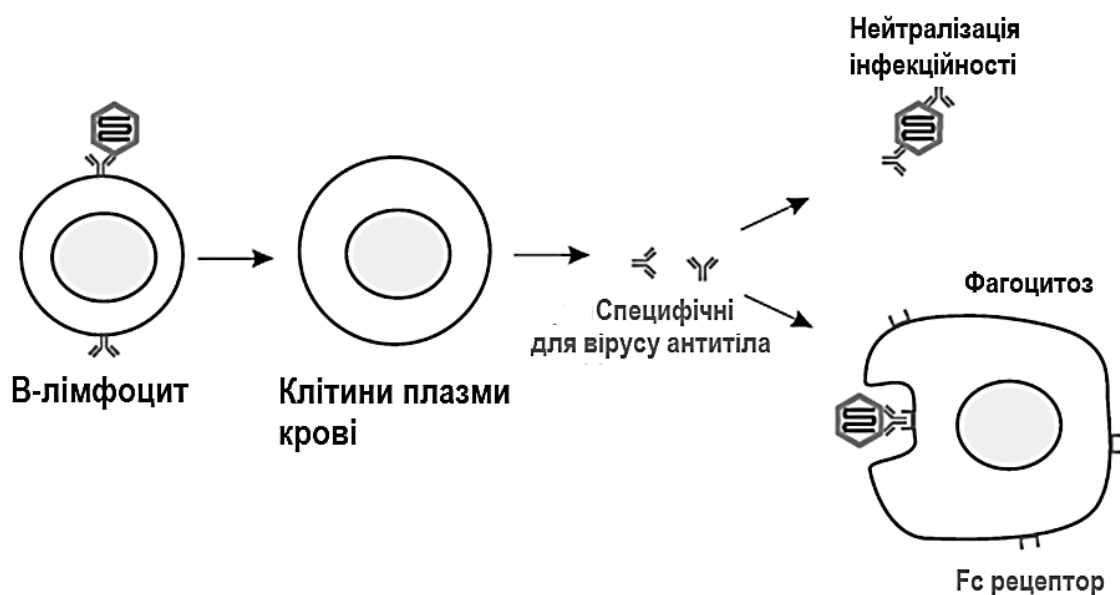
**Антитіла.** Антитіла є глікопротеїнами, що належать до типу білків, які звуться імуноглобулінами (Ig). Молекули антитіла складаються з двох «важких» і двох «легких» поліпептидних ланцюгів (Мал. 5.5), містять два сайти зв'язування антигенів і регіон, відомий як Fc. Описано декілька класів імуноглобулінів, щодо противірусного імунітету найбільш важливими є IgG і IgM в крові і IgA на слизових оболонках. У нормі молекули IgG є мономерами, IgA димерами, а IgM пентамерами.



**Мал. 5.5.** Структура молекули антитіла. Молекула складається з чотирьох поліпептидів – двох «важких» і двох «легких» ланцюгів, сполучених разом дисульфідними зв'язками. Організація цих поліпептидів створює структуру, що має дві ділянки, які можуть зв'язуватися із специфічними антигенами. Fc – фрагмент, що кристалізується (Fragment crystallizable) (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Специфічні для певного антигена антитіла синтезуються клітинами плазми крові, які беруть походження від В-лімфоцитів. Проліферація певного клону В-клітин стимулюється взаємодією антигена і специфічного рецептора на поверхні клітини.

Антитіла відіграють важливу роль в декількох аспектах антивірусного імунітету. Специфічні для вірусу антитіла здатні покрити як віріони, так і заражені вірусами клітини, і це може привести до їх деструкції різними способами.



**Мал. 5.6.** Деякі аспекти протівірусної активності антитіл. Антитіла можуть зв'язатися з віріоном і нейтралізувати його інфекційність. Покритий антитілами віріон може бути поглинений фагоцитом після прикріплення Fc-регіонів антитіл до рецепторів на фагоциті (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Декілька типів клітин імунної системи має рецептори для Fc-регіону IgG, що дозволяє цим клітинам прикріплятися до покритих антитілами віріонів або заражених клітин. До типів клітин, що мають рецептори для Fc-регіону, належать нейтрофіли і макрофаги, а також клітини природні кілери. Нейтрофіли і макрофаги є фагоцитами і можуть поглинати покритий антитілами матеріал; проте вони можуть вбивати покриті антитілами клітини без їх поглинання. Клітини природні кілери можуть вбивати інфіковані вірусами клітини або інтегруючи перфоріни в мембрани таких клітин, або індукуючи в них запрограмовану загибель.

Ще одним наслідком зв'язування антитіл з вірусними антигенами є активація комплементу. Система комплементу – комплекс білків, постійно присутніх в крові. Це каскадна система протеолітичних ферментів, призначена для захисту організму від дії сторонніх агентів, вона бере участь в реалізації імунної відповіді організму і є важливим компонентом як природженого, так і адаптивного імунітету.

Білки комплементу у присутності певних вірусів зазнають модифікацій, які допомагають захистити хазяїна від інфекції. Одним з антивірусних ефектів є включення комплексів білків комплементу в мембрани віріонів, що мають оболонки, і мембрани клітин, заражених вірусом. Це призводить до деструкції як віріонів, так і заражених клітин. Ще одним антивірусним ефектом білків комплементу є їх здатність покривати віріони. Рецептори білків комплементу є у деяких типів нейтрофілів і макрофагів, які поглинають віріони.

Зв'язування антитіл з віріонами може призводити також до нейтралізації інфекційності. Це може відбуватися різними механізмами. Так, антитіла можуть вивільняти нуклеїнову кислоту з віріона. У дослідженнях з деякими вірусами було показано, що антитіла можуть приєднуватися до віріона, а потім від'єднуватися від нього, залишаючи порожній капсид, позбавлений генома. Далі, антитіла можуть запобігати прикріпленню віріона до рецепторів на поверхні клітини, маскуючи сайти прикріплення у віріона (антирецептори). Антитіла можуть також призводити до від'єднання від клітини віріонів, що вже прикріпилися. Нарешті, антитіла можуть інгібувати роздягання генома.

**Т-лімфоцити.** Через декілька днів після стимуляції антигенами, наївні (ненавчені) Т-клітини розвиваються в ефекторні Т-клітини, які підрозділяють на два класи.

*Хелперні Т-клітини* виділяють специфічні цитокіни<sup>1</sup>. Особливістю Т-хелперних клітин є присутність молекул білка CD4 на їх поверхні. Т-хелперні клітини грають ключову роль в ініціації імунної відповіді, виконуючи багато функцій.

*Цитотоксичні Т-клітини* вбивають заражені вірусами клітини. Для них є особливістю присутність на поверхні білка CD8. Антиген вірусу має бути презентованим (виставленим) на поверхні клітини-мішені. Антиген може бути білком поверхні віріона, хоча часто антигенами є внутрішні білки віріона і навіть неструктурні білки.

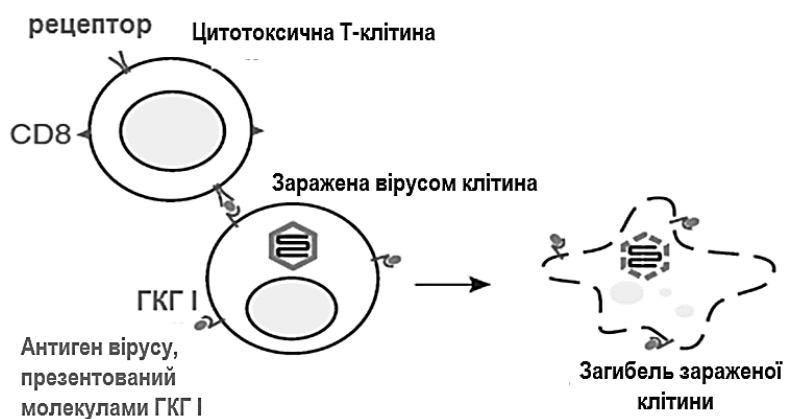
Вірусні антигени виставляються на поверхні клітин в асоціації з молекулами головного комплексу гістосумісності класу I. Ще говорять, що молекули ГКГ класу I презентують антиген цитотоксичним Т-лімфоцитам. Цитотоксичні Т-клітини вбивають клітини-мішені за допомогою вбудовування в їх мембрани білків (перфоринів) або за допомогою індукції запрограмованої загибелі (Мал. 5.7).

**Протидія вірусів Т-клітинам.** Деякі віруси, наприклад віруси герпесу, знижують рівень експресії молекул головного комплексу гістосумісності класу I на поверхні клітини, що робить проблематичним для Т-клітин розпізнавання клітин-мішеней.

**Імунологічна пам'ять.** Якість і інтенсивність адаптивного імунітету залежить від того, чи зустрічається хазяїн з цим вірусом перший раз. Деякі В- і Т-лімфоцити можуть виживати впродовж тривалого часу як клітини імунологічної пам'яті після того, як організм був зараженим вірусом. Клітини пам'яті переходять

<sup>1</sup> Цитокіни — клас невеликих пептидів та білків (8–30 кДа), що регулюють міжклітинні і міжсистемні взаємодії в організмі, включаючи виживання клітин, стимуляцію або пригнічення їх росту, диференціацію, функціональну активність і апоптоз, а також забезпечують узгодженість дії імунної, ендокринної і нервової систем в нормальних умовах і у відповідь на патологічні дії, включаючи появу інфекційних агентів. До цитокінів належать зокрема інтерферони.

дять в стан, що покоїться, з якого вони можуть бути реактивовані, якщо в організмі знову з'являється відповідний антиген. Ці клітини є основою імунологічної пам'яті, яка може формуватися або в результаті природної інфекції, або за допомогою антигенів вакцини. Таким чином, результат зараження хребетної тварини вірусом багато в чому залежить від того, має або ні хазяїн імунологічну пам'ять до антигенів цього вірусу. У разі наявності імунологічної пам'яті, захворювання зазвичай протікає легко або відсутнє взагалі.



**Мал. 5.7.** Загибель зараженої вірусом клітини, що індукується цитотоксичною Т-клітиною. Цитотоксична Т-клітина вбиває заражену вірусом клітину після того, як рецептори Т-клітини розпізнають фрагмент вірусного антигена, виставлений на поверхні клітини в асоціації з молекулами головного комплексу гістосумісності класу I (ГКГ I) (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

### 5.3. Запрограмована загибель клітин

Вірусна інфекція в клітинах може ініціювати процес, який призводить до загибелі клітини ще до того, як утворюється потомство вірусу і починає працювати імунна система цілого організму. Таким чином, забезпечується запобігання поширення вірусу в інші клітини. У клітинах тварин з різних механізм суїциду найчастіше відбувається апоптоз. У рослин таку захисну реакцію називають надчутливою відповіддю. Процес запрограмованої загибелі клітин відіграє важливу роль не лише в імунологічній реакції, але також і в процесах нормального росту і розвитку (наприклад, у зародка людини таким шляхом зникає хвіст).

Подібний механізм захисту від зараження фагами трапляється і у бактерій. Загибель зараженої клітини до того, як потомство фага буде сформовано, захищає інші сприйнятливі клітини від зараження. Цей механізм був виявлений у *Escherichia coli* і багатьох інших видів бактерій.

Загалом, якщо заражена вірусом клітина успішно здійснить процес запрограмованої загибелі, це виявиться корисним для усього багатоклітинного хазяїна або для популяції одноклітинних хазяїв.

***Протидія вірусів запрограмованій загибелі клітин.** У багатьох вірусів розвилися механізми, які можуть пригнічувати апоптоз в різних фазах цього процесу. Наприклад, багато ДНК-вірусів кодують білки, споріднені білкам клітини BCL-2, які контролюють перебіг апоптоза. Внаслідок блокування апоптоза клітина залишається живою і вірус завершує цикл реплікації.*

**Противірусний імунітет рослин.** Порівняно з тваринами, імунна система рослин організована менш складно. В них відсутня циркуляторна система і, відповідно, немає циркулюючих імунних клітин; більше того, у рослин взагалі немає спеціалізованих імунних тканин і органів. Клітини рослин мають клітинну стінку і не здатні до фагоцитозу. Однак рослини здатні на високоспецифічну імунну відповідь. Яким же чином працює імунітет рослин?

Рослини використовують іншу в порівнянні з вищими тваринами стратегію захисту від патогенів: кожна рослинна клітина володіє сформованим заздалегідь та/або індукованим захистом.

«Оборонні укріплення» рослин організовані у вигляді двох форм активного імунітету. Ці форми розрізняються за типом індукторів захисної реакції і рецепторам, які використовуються рослинами для активації захисного відгуку.

Перша форма запускається консервативними молекулярними патернами, асоційованими з патогенами, або молекулами, що з'являються в результаті впливу патогенів на клітини рослини або, навпаки, впливу рослинних ферментів на мікроорганізми («сигнали небезпеки»). Цю форму імунітету називають імунітетом, що запускається патернами, або базальним імунітетом. Прикладами асоційованих з патогенами молекулярних патернів є флагелін бактерій, хітин грибів тощо. А патерном, асоційованим з фітопатогенними вірусами, є дволанцюгова РНК, тож головною противірусною реакцією базального імунітету рослин є сайленсинг РНК, який відбувається загалом таким же чином, як і у тварин (Мал. 5.4).

Успішні патогени рослин, включаючи вірусів, для придушення реакцій базального імунітету мають великий асортимент білкових ефекторів, які тим чи іншим способом запобігають імунному відгуку й індукують у рослин викликану ефекторами сприйнятливість. У свою чергу, рослини виробляють білки стійкості (R-білки), які безпосередньо або опосередковано розпізнають присутність ефекторних білків патогенів і активують другу лінію активної оборони – імунітет, що запускається ефекторами патогенів. Підчас активації цієї форми імунітету запускаються складні каскади передавання внутрішньоклітинних сигналів і активується багато захисних систем. Часто (хоча і не завжди) активація імунітету, що запускається ефекторами, призводить до локалізованої запрограмованої загибелі заражених клітин рослин, так званої надчутливої відповіді.

#### 5.4. Непродуктивна інфекція

При деяких обставинах вірус заражає клітину, але цикл реплікації вірусу не завершується, незважаючи на те, що клітина залишається живою. Якщо геном вірусу зберігається в клітині, таку інфекцію називають латентною. Інакше інфекцію називають абортивною.

**Абортивна інфекція.** У разі абортивної інфекції реплікація вірусу відсутня, і його геном не зберігається в клітині. Інфекція може бути абортивною з причин, пов'язаних з клітиною, навколишніми умовами і/або вірусом. Вірус може, наприклад, викликати продуктивну інфекцію в клітинах одного типу, але абортивну інфекцію в клітинах іншого типу. Підчас деяких абортивних інфекцій вірус вбиває клітину хазяїна за рахунок занадто сильного пригнічення її метаболізму.

Деякі віріони містять дефектний геном, який може бути здатний ініціювати цикл реплікації, але не мати повного набору функціональних генів для його завершення.

**Латентна інфекція.** У разі латентної інфекції геном вірусу зберігається в клітині або у вигляді послідовності ДНК, інтегрованої в геном, або у вигляді множинних копій ковалентно замкненої кільцевої ДНК.

У клітинах еукаріотів віруси пов'язані з гістонами клітини хазяїна, що є важливим для збереження латентного стану. Якщо умови усередині клітини стають сприятливими для реплікації, латентна інфекція може перетворитися на продуктивну інфекцію.

Явище латентної вірусної інфекції у бактерій носить назву лізогенії, а фаги, які можуть викликати латентну інфекцію, називають помірними фагами. Геноми фагів (профаги) можуть виживати так само, як і у випадку латентної інфекції в еукаріотів. Часто профаг інтегрується у бактерійний геном, проте чимало фагів виживають як кільцеві автономні ДНК.

Геном помірних фагів може містити гени, які створюють селективну перевагу бактерійним хазяям. Деякі фактори вірулентності паразитичних бактерій насправді кодуються помірними фагами, наприклад деякі штами *E. coli* стають здатними викликати дизентерію завдяки утворенню так званого шига-токсина, утворення якого контролюється помірним фагом.

Впродовж латентної інфекції геном вірусу може бути або повністю вимкнений, або деякі гени вірусу можуть експресуватися у вигляді білків і/або РНК, що не кодують білків.

У багатьох випадках латентна інфекція переходить в продуктивну інфекцію, цей процес називають індукцією. Індукція може відбуватися з різних причин:

- клітина еукаріотичного хазяїна переходить в іншу фазу клітинного циклу;
- клітина хазяїна опромінюється ультрафіолетовим випромінюванням. Це може запустити, наприклад, реплікацію помірного фага і лізис клітини бактерії-хазяїна, або латентний вірус простого герпесу переходить до реплікації і викликає герпес, лихоманку;

- в організмі хазяїна послаблюється імунітет. Це є іншою причиною, яка реактивує латентний вірус простого герпесу;
- клітина хазяїна заражається іншим вірусом, який забезпечує функцію, яку перший вірус втратив. Це стосується вірусів-сателітів і вірусів-помічників.

### 5.5. Продуктивна інфекція

Продуктивна вірусна інфекція означає успішне завершення циклу реплікації вірусів і вивільнення дочірніх віріонів з заражених клітин, які можуть протягом цього процесу деякий час можуть залишатися живими або гинуть.

**Поширення вірусів усередині організму багатоклітинного хазяїна.** Після зараження першої клітини дочірні віріони можуть заразити сусідні клітини; наприклад віруси, що викликають застуду можуть заразити інші клітини епітелію, а ротавіруси інші клітини епітелію шлунково-кишкового тракту. Більшість розташованих поруч клітин тварин відокремлена одна від одної плазматичною мембраною, що дозволяє вірусам безпосередньо переходити з клітини в клітину.

Віруси рослин повинні переміщатися з клітини в клітину через плазмодесми, і кожен фітопатогенний вірус кодує від одного до чотирьох спеціалізованих білків, які дозволяють вірусу це робити. Ці білки звуться транспортними білками (ТБ) і функціонують з використанням різних механізмів. ТБ формують комплекси або з вірусною нуклеїновою кислотою, або з вірусною нуклеїновою кислотою і білком оболонки (нуклеокапсидом), допомагаючи їм переміщуватися через плазмодесми. Транспортні білки є поліфункціональними і грають роль не лише транспортного білка, але задіяні і в інших етапах циклу реплікації вірусу.

У деяких обставинах віріони можуть транспортуватися у віддалені частини хазяїна, де сприйнятливі клітини стають зараженими. В тілі тварин в ролі транспортних магістралей для вірусів можуть використовуватись кров і нерви, тоді як у рослин транспорт на далекі відстані здійснюється через флоему.

**Захворювання.** Чимало вірусних інфекцій не викликають захворювання у своїх хазяїв, в інших же випадках вірус може викликати захворювання з фатальним результатом, таке як сказ або СНІД. Між двома цими крайніми випадками розташовані вірусні захворювання з різним ступенем тяжкості протікання.

Захворювання можна визначити по симптомах або певних ознаках. У медичній термінології симптоми є суб'єктивними особливостями, такими як біль в животі або відчуття втоми. Кажучи іншими словами, симптоми – це відчуття, які зазнає людина. Ознаки ж є об'єктивними особливостями, такими як, наприклад, кров у екскрементах або висипання на шкірі. Симптоми і ознаки хвороби – це не синоніми, не слід їх плутати. Симптоми може виявити тільки заражений індивідум, тоді як ознаки видно кожному. Фітопатологи і вірусологи, працюючи з рослинами, використовують термін симптоми хвороби відносно об'єктивних особливостей, таких як, наприклад, розмір поразок на листі або мозаїка. Так само



симптомами називають ознаки вірусних хвороб у комах. Так чомусь склалося історично. Проте стосовно хвороб людини симптоми і ознаки не слід плутати.

При зараженні деякими вірусами, наприклад депендовірусами, деякими герпесвірусами і деякими реовірусами, захворювання не виникає. Зараження іншими вірусами, такими як поліовірус (родина Picornaviridae) або вірус гепатиту В (родина Herpesviridae), може спричинити захворювання, а може і не призвести до захворювання. Інфекції, які не призводять до захворювань, називають субклінічними або безсимптомними.

Не треба плутати латентні вірусні інфекції з безсимптомними вірусними захворюваннями. Латентна вірусна інфекція не є продуктивною; у той же час безсимптомні вірусні захворювання спостерігаються на тлі продуктивної вірусної інфекції.

Складна взаємодія різних чинників визначає, чи буде викликати зараження вірусом захворювання, чи ні, і якщо захворювання буде викликано, в якому ступені тяжкості воно проявиться. До числа цих чинників належать особливості, пов'язані з вірусом, фактори, пов'язані з хазяїном, і втручання людини.

Для вірусів чинники, які впливають на результат зараження, включають вірулентність та дозу вірусу.

**Вірулентність певного штаму вірусу.** Вірулентність вірусу, як і патогенного мікроорганізму, визначається мірою його хвороботворної здатності, тобто тяжкістю протікання викликаного ним захворювання. Наприклад, вірус грипу А (родина Orthomyxoviridae) має два антигени: гемаглютинін (H) і нейрамінідазу (N). Існує 13 варіантів H (H1–H13) і 9 варіантів N (N1–N9). Антигенні варіанти вірусу грипу А можуть поєднуватися в різних комбінаціях. Для людини тип H5N1 є більше вірулентним, ніж типи H1N1 і H3N2, оскільки під час зараження типом H5N1 захворювання минає важче.

**Доза вірусу.** Більш висока доза вірусу може призводити до коротшого інкубаційного періоду, тобто часом між зараженням і проявом перших симптомів і/або ознак.

Чинники хазяїна, що впливають на результат зараження, включають ефективність роботи імунної системи. Слід зазначити, що сильніша імунна відповідь у хазяїна не гарантує видалення вірусу. ВІЛ (родина Retroviridae) продовжує реплікуватися у присутності високих рівнів специфічних для ВІЛ антитіл і Т-лімфоцитів. В деяких випадках симптоми і/або ознаки хвороби можуть бути наслідком імунної відповіді проти вірусу. Висипання під час кору (родина Paramyxoviridae) і поразки протягом простого герпесу є клінічним проявом спроби тіла людини зруйнувати інфіковані вірусом клітини.

Втручання людини, яке впливає на результат вірусної інфекції у людини або тварин, полягає в призначенні противірусних антитіл або противірусних ліків.

Одужання хазяїна підчас вірусної хвороби може бути пов'язане з видаленням вірусу, що відбувається наприклад протягом звичайної вірусної застуди в дихальних шляхах або ротавірусній інфекції шлунково-кишкового тракту. Одужання може також супроводжуватися формуванням довготривалої інфекції, можливо і на все життя. Така персистентна інфекція, чи є вона продуктивною або латентною, може не мати подальших наслідків для хазяїна, або вона може викликати захворювання протягом старінні хазяїна. Зараження в дитинстві вірусом вітряної віспи може призводити до довічної латентної інфекції, яка може реактивуватися і викликати оперізуючий лишай. Тривале персистентне зараження людей і тварин деякими вірусами може призводити до формування злоякісних пухлин.

Після ознайомлення з цим розділом ви повинні:

- знати наслідки зараження клітини хазяїна вірусами
- розуміти вплив різних чинників на результат вірусної інфекції
- знати головні механізми вродженого противірусного імунітету хребетних тварин
- знати головні механізми набутого імунітету хребетних тварин
- знати головні особливості противірусного імунітету рослин
- вміти характеризувати головні особливості продуктивної і непродуктивної вірусної інфекції

#### **Додаткове читання до розділу 5.**

1. Кириченко А.М., Телегєєва Т.А., Коваленко О.Г. Молекулярно-генетичні механізми стійкості рослин до вірусів // Цитология и генетика. 2007. Т. 41, №2. С. 67–79.
2. Chen Y.-B., Fannjang Y. Hardwick J.M. Cell death in viral infections. In: When Cells Die II. Ed. Lockshin R.A., Zakeri Z. Wiley, 2004. P. 436–460.
3. Iannello A., Debbeche O., Martin E., Attalah L.H., Samarani S., Ahmad A. Viral strategies for evading antiviral cellular immune responses of the host // J. Leukoc. Biol. 2006. Vol. 79, N. 1. P. 16–35.
4. Kawai T., Akira S. Innate immune recognition of viral infection // Nat. Immunol. 2006. Vol. 7, N. 2. P. 131–137.
5. Koyama S., Ishii K.J., Coban C., Akira S. Innate immune response to viral infection // Cytokine. 2008. Vol.43, N. 3. P. 336–341.
6. Soosaar J.L., Burch-Smith T.M., Dinesh-Kumar S.P. Mechanisms of plant resistance to viruses // Nat. Rev. Microbiol. 2005. V3, N. 10. P. 789–798.
7. Stram Y., Kuzntzova L. Inhibition of viruses by RNA interference // Virus Genes. 2006. Vol.32, N. 3. P. 299–306.

## Розділ 6. Розповсюдження вірусів

### 6.1. Загальні принципи розповсюдження вірусів

Деяка мінімальна кількість віріонів, які були сформовані у зараженого хазяїна, мають бути перенесені на нових хазяїв, в яких утворюються нові віріони. Якщо цього не відбуватиметься, вірус зникне. Єдиною альтернативною можливістю для виживання генів вірусу є його збереження в клітинах у вигляді нуклеїнової кислоти, яка реплікується і передається дочірнім клітинам під час ділення.

Віруси бактерій та інших мікроорганізмів вивільняються із заражених клітин в середовище, що оточує хазяїна, де ймовірно можуть бути присутніми інші сприйнятливі клітини. Ці віруси залежать від шансу зустрітися із сприйнятливою клітиною, до якої вони можуть приєднатися через поверхневі рецептори і проникнути всередину.

Віруси багатоклітинних організмів також повинні знайти нову клітину для зараження. Інфекція може поширюватися до клітин, що примикають, або до клітин, що знаходяться на деякому видаленні від зараженої, за допомогою перенесення вірусних часток кров'ю у тварин або по флоемі рослин. Проте зрештою для свого виживання вірус повинен знайти нового хазяїна.

Деякі віруси після зараження міняють поведінку своїх хазяїв, збільшуючи імовірність свого поширення. Ссавці, заражені вірусом сказу, часто стають агресивними; така зміна поведінки збільшує імовірність укусу хазяїном вірусу іншого індивідуума і передачі вірусу через слину. Деякі личинки комах, що живляться на рослинах, після зараження бакуловірусами стають більш рухливими, допомагаючи вірусу поширюватися.

При їх міграціях між хазяями віруси повинні виживати в несприятливих умовах оточення, таких як повітря, вода або ґрунт. Проте низка вірусів може переміщатися на нових хазяїв без попадання у недружнє оточення. Це віруси, які можуть переноситися безпосередньо від хазяїна до хазяїна, наприклад під час поцілунків, а також віруси, які переносяться за допомогою переносників, або векторів. До подібних вірусів відносяться також віруси, які можуть передаватися від батьків потомству, наприклад насінням рослин.

Передача вірусів потомству протягом різних способів розмноження зветься **вертикальною** передачею вірусів. Усі інші випадки передачі вірусів називають **горизонтальною** передачею.

Поширення вірусів в людській популяції має свої особливості. Відповідно до чотирьох основних типів локалізації збудника в організмі (дихальні шляхи, шлунково-кишковий тракт, кров, зовнішні покриви) виділені декілька механізмів передачі вірусів.

**Трансмівний механізм** – передача за допомогою біологічних переносників. Під час будь-якого варіанту такої передачі вірус черпається переносником з внутрішнього середовища донора і впроваджується у внутрішнє середовище реципієнта.

**Парентеральний механізм – передача вірусів через кров.** Віруси, що циркулюють в крові, можуть передаватися в процесі переливання крові, під час використання забруднених шприців та інших медичних інструментів (штучний шлях), в процесі сексуальних контактів (статевий шлях) тощо.

**Аліментарний (ентеральний) механізм** – вірус проникає через слизові оболонки органів травлення. Різновидом аліментарного механізму є фекально-оральний механізм передачі вірусу.

**Аерогенний механізм** – вхідними воротами інфекції є слизові оболонки органів дихання. Реалізується повітряно-краплинним або пиловим шляхом.

**Контактний механізм** – реалізується через шкірні покриви. Такий механізм передачі можуть використати дуже небагато вірусів. Так, наприклад, вірус сказу (родина *Rhabdoviridae*) може проникати в організм тварини і людини під час облизнювання шкірних покривів. Слина собак містить гіалуронідазу, яка полегшує проникнення вірусу в кров через шкіру.

**Вертикальний механізм** – передача вірусів від матері плоду під час виношування і пологів. Збудник може передаватися через плаценту, через навколоплідні води і оболонки, під час проходження плоду через пологові шляхи матері.

Різними способами віруси можуть переміщатися на значні відстані. У нові регіони віруси можуть переноситися вітром або водою. Наприклад, спалах ящура на острові Вайт в протоці Ла-Манш в 1981 р. були ініційовані вірусом, який був перенесений по повітрю з Бретані, що знаходиться на відстані більше 250 км. Віруси птахів, риб, людей та інших хазяїв переміщаються усередині своїх хазяїв в інші частини планети в результаті міграції, подорожей або експорту тварин. Наприклад, завдяки міграції птахів переноситься вірус пташиного грипу (родина *Orthomyxoviridae*), завдяки подорожам людей переноситься вірус атипової пневмонії (родина *Coronaviridae*), завдяки експорту тварин переноситься вірус віспи мавп (родина *Poxviridae*).

Більше того, віруси можуть транспортуватися і на неживих матеріалах, наприклад вірус ящура (родина *Picornaviridae*) на соломі і сільськогосподарських машинах і навіть на взутті людей.

Теоретично єдиний віріон може викликати зараження, але практично виявляється, що хазяїн має бути інокульований деякою мінімальною кількістю віріонів, щоб зараження сталося. Мінімальна кількість вірусних часток, необхідна для зараження хазяїна, зветься **мінімальною інфікуючою дозою**.

## 6.2. Принципи передачі вірусів за допомогою векторів

Чимало вірусів тварин і рослин переносяться між хазяями за допомогою організмів, які живляться на цих хазяях. Існує декілька аспектів векторного перенесення, спільних для вірусів тварин і рослин.

Чимало векторів вірусів є членистоногими, або артроподами (комахи, кліщі). Тому віруси хребетних, які переносяться членистоногими, часто називають арбовірусами (від **arthropod-borne viruses**). Зверніть увагу, арбовіруси – це не систематична категорія!

Правилом векторного перенесення є те, що вектор придбаває вірус, коли він живиться на зараженому хазяїнові, і надалі переносить вірус на одного або декількох нових хазяїв. Деякі віруси переносяться після того, як віріони прикріплюються до ротового апарату їх векторів в результаті живлення. Передача вірусів у такому разі може здійснюватися впродовж секунд або хвилин після того, як вектор придбав вірус. Проте чимало вірусів, що переносяться векторами, проходять через стінки травного тракту вектору і потрапляють в його кровоносну систему. Далі вірус потрапляє в слинні залози і виділяється із слиною, заражаючи нового хазяїна протягом живлення вектору. Такий спосіб передання вірусів називають циркулятивним, і передача вірусу вектором може відбуватися тільки через години або навіть дні після того, як він придбав вірус.

Деякі циркулятивні віруси реплікуються в одній або декількох тканинах і органах свого вектору; таким чином, є віруси, які можуть реплікуватися як у безхребетних тваринах, так і в рослинах, або як у безхребетних, так і в хребетних тваринах.

Отже, є віруси з вражаюче широким колом хазяїв. Більшість, але не усі, безхребетних векторів мало страждають від присутності вірусу або взагалі не відчують шкоди від зараження. Підчас зараження вірусом репродуктивних органів, стає можливою передача вірусу від вектору до вектору. Деякі віруси передаються протягом спаровування від самців до самиць і навпаки, інші віруси передаються наступному поколінню через яйця. У разі передачі через яйця, це явище називають **трансоваріальною** передачею вірусу.

Між більшістю векторів і вірусами, які вони передають, є висока ступінь специфічності. У загальному випадку специфічність більше виражена між вірусами рослин і їх векторами, ніж у вірусів хребетних і їх векторів.

## 6.3. Передача вірусів рослин

Клітина рослини оточена товстою клітинною стінкою, яка є істотним бар'єром для вірусу. Більшість вірусів рослин долають цю перешкоду за допомогою векторів. Рослину як джерело їжі використовує широке коло організмів, і деякі з них, особливо безхребетні, можуть бути векторами (переносниками) для вірусів (Мал. 6.1).

Чимало векторів (наприклад попелюхи, нематоди) живляться, проколюючи клітинні стінки і всмоктуючи вміст, тоді як жуки найчастіше бувають такими, що гризуть тканини рослин. Найбільш загальним вектором вірусів рослин є попелиці.



Попелиці

Цикадки

Білокрилки

Жорсткокрилі

Кліщі

Нематоди

Фітопатогені протисти

**Мал. 6.1.** Приклади векторів, які здатні передавати віруси рослин (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Може виникнути питання, яким чином безхребетні, що живляться, всмоктуючи вміст клітин, можуть ввести вірус до життєздатної клітини. Справа в тому, що перед тим, як почати живлення, тварина «промацує» декілька сусідніх клітин. Тож віруси потрапляють до клітин, з якими організм-вектор контактував, але в решті решт не висмоктає і залишив життєздатними.

Фітопатогенні нематоди, що поширюють віруси, проколюють клітини коренів і живляться їхнім вмістом. Передача вірусу нематодою припиняється після линьки. Це доводить, що вірус не проникає з травного тракту в тіло нематоди.

Деякі фітопатогенні грибоподібні організми, які належать до протистів (нижчих еукаріотів), також можуть бути векторами вірусів. Наприклад плазмодіофорида *Spongospora subterranea*, яка викликає порошисту паршу картоплі, є вектором, що переносить вірус моп-топ картоплі (potato mop top virus, родина Virgaviridae). Плазмодіофорида *Polymyxa betae* переносить вірус некротичного пожовтіння жилок буряка (родина Benyviridae), який викликає хворобу, відому як ризоманія. Якщо рослина заражена вірусом і переносником-протистом, віріони можуть переміститися до спори переносника. Вірус може виживати в спорах впродовж місяців і років, поки спори не проростуть і не інфікують нового хазяїна, який стає зараженим і фітопатогенним протистом, і вірусом.

Близько 20% вірусів рослин можуть передаватися вертикально, завдяки чому зараженим стає насіння, яке після проростання дає заражене покоління рослин. Більшість вірусів, які передаються насінням, розташовуються у зародку, який

придбаває віруси або із зараженої яйцеклітини, або із заражених пилоквих зерен. Чимало вірусів рослин можуть бути передані штучним шляхом, наприклад під час щеплень заражений вірусами матеріал може бути перенесений на нового хазяїна.

#### 6.4. Передача вірусів хребетних

**Невекторна передача вірусів хребетних.** Значна частина вірусів хребетних тварин, включаючи людину, заражають своїх хазяїв через слизові оболонки верхніх дихальних шляхів. Заражена особина може розповсюджувати крапельки, що містять вірус, протягом чхання, розмові або кашля, і новий хазяїн стає зараженим під час вдихання цього матеріалу. Віруси, що заражають шлунково-кишковий тракт, можуть виводитися з екскрементами, і якщо екскременти потраплять у воду або в їжу, то після споживання такої води або їжі новий хазяїн може заразитися вірусом.

Деякі віруси можуть вивільнятися під час ушкоджень, наприклад віруси ящура (родина *Picornaviridae*) у випадку ушкоджень на кінцівках або у роті або папіломавіруси вивільняються у бородавках. Ці віруси можуть бути перенесені як під час безпосереднього контакту зараженого і незараженого хазяїв, так і опосередковано через забруднення навколишніх предметів.

У більшості схожих випадків хазяїн стає зараженим, коли заражаються епітеліальні клітини і/або лімфоїдні клітини на поверхні тіла. Протягом деяких інфекцій, наприклад під час вірусної застуди, зараження обмежується цими тканинами. У інших же випадках, таких як вірус кору (родина *Paramyxoviridae*) або ВІЛ (родина *Retroviridae*), вірус перетинає епітеліальні тканини і поширюється до інших тканин і органів.

**Векторна передача вірусів хребетних.** Вектори, які передають віруси хребетних, найчастіше є членистоногими, що живляться кров'ю; вони придбавають віруси, коли живляться на зараженій тварині. Очевидно, що це відбувається тільки тоді, коли вірус є присутнім в крові зараженої тварини; таку ситуацію в медицині називають вірусемією.

Приклади переносників, за допомогою яких передаються віруси хребетних тварин, наведені на Мал. 6.2. Так, комарі можуть бути переносниками таких вірусів, як вірус жовтої лихоманки або вірус лихоманки Західного Нилу (обидва вірусу належать до родини *Flaviviridae*). Мошки здатні передавати вірус-збудник блутангу, або катаральної лихоманки овець (родина *Reoviridae*). Чимало вірусних хвороб передаються кліщами; до них зокрема належить кліщовий енцефаліт.

Деякі членистоногі, які придбавають вірусну інфекцію у хребетних, залишаються інфекційними усе життя. Це відбувається у випадку кліщів, які заража-

ються вірусом кліщового енцефаліту (родина *Flavoviride*). Трансоваріальна передача показана для низки вірусів, включаючи вірус жовтої лихоманки, який переноситься комарами.

Віруси, що містяться в крові або продуктах переробки крові, можуть бути перенесені впродовж медичних процедур неживими «векторами», типу устаткування для переливання крові або шприців.



Комари



Мошки



Кліщі



Нестерильні шприци

**Мал. 6.2.** Приклади векторів, які спроможні передавати віруси хребетних тварин (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

#### 6.5. Передача вірусів безхребетних тварин

Вище йшлося про віруси рослин і хребетних тварин, які можуть реплікуватися у векторах – безхребетних тваринах. Проте на ці віруси можна дивитися і з точки зору переносників і вважати їх вірусами безхребетних, оскільки безхребетні тварини є для них також є хазяями. Однак окрім цих вірусів, безхребетні тварини мають чимало власних вірусів, які реплікуються тільки у безхребетних тваринах. Багато хто з цих вірусів формує білкові включення, які є великими білковими структурами, в які включені віруси. До вірусів, які утворюють включення, належать зокрема бакуловіруси. Включення можуть виводитися з фекаліями інфікованої вірусами комахи, або залишаються в хазяїнові, поки комаха не буде з'їдена хижаком або доки вона не загине в результаті вірусної інфекції. Включення є досить міцними структурами, які здатні пережити розкладання хазяїна і забезпечують захист віріонів в зовнішньому оточенні. Нові комахи стають інфікованими, коли ковтають включення з їжею. Ферменти і високий рН в кишківнику руйнують тельця включення, вивільняючи віріони.



Для деяких безхребетних тварин повідомляють про вертикальну передачу і векторну передачу вірусів. Вертикальна передача може здійснюватися через яйця, тобто трансоваліарно, або через поверхню яєць. До векторів, що беруть участь в передачі вірусів між комахами, належать паразитичні оси.

#### 6.6. Пермісивні клітини

Для своєї реплікації, віруси повинні отримати доступ до пермісивних<sup>1</sup> клітин, тобто сприйнятливих до вірусу клітин хазяїна, здатних забезпечити реплікацію вірусів. Для вірусів, які зв'язуються з поверхневими рецепторами клітини, першим кроком в зараженні є пошук відповідного рецептора, з яким вірус може зв'язатися. Окрім того, клітина повинна або містити усі необхідні вірусу компоненти, або вірус їх має бути здатний індукувати. До таких компонентів належать зокрема клітинні білки, наприклад фактори транскрипції і ферменти.

Деякі віруси обмежені вузьким кругом пермісивних клітин, наприклад віруси гепатиту В майже виключно обмежені гепатоцитами. Інші віруси менш обмежені в типі клітин, і багато хто може розмножуватися навіть в цілковито неспоріднених хазяях, наприклад в рослині і комасі-переноснику вірусу.

Деякі віруси еукаріотів потребують, щоб клітина хазяїна була в певній фазі клітинного циклу. Наприклад, ретровірусам необхідно потрапити в ядро клітини, і більшість з них можуть це зробити тільки тоді, коли оболонка ядра руйнується під час мітозу. Парвовіруси містять ДНК, і для реплікації своєї ДНК використовують ферменти хазяїна. Відповідно, їм потрібні клітини, в яких ці ферменти є присутніми, тобто клітини у фазі S.

Наступною важливою вимогою до пермісивних клітин є відсутність у них захисту від вірусу, або вірус має бути здатним здолати захист клітини.

Таким чином, для успішного зараження клітини вірус повинен доставити в неї свій геном, геном повинен залишитися інтактним і вірус повинен покласти край усім спробам хазяїна припинити його реплікацію.

Після ознайомлення з цим розділом ви повинні:

- знати загальні механізми і особливості передавання вірусів тварин і рослин
- розуміти роль векторів у передаванні вірусів і загальні принципи векторної передачі вірусів

#### Додаткове читання до розділу 6.

1. Bergelson J.M. Virus interactions with mucosal surfaces: alternative receptors, alternative pathways // Curr. Opin. Microbiol. 2003. Vol.6, N. 4. P. 386–391.

<sup>1</sup> Пермісивний – від англ. permissive – який дозволяє, терпимий, поблажливий.

2. Gray S.M, Banerjee N. Mechanisms of arthropod transmission of plant and animal viruses // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 1999. Vol.63, N. 1. P. 128–148.
3. Ng J.C., Perry K.L. Transmission of plant viruses by aphid vectors // Mol. Plant Pathol. 2004. Vol.5, N. 5. P. 505–511.
4. Ng J.C., Falk B.W. Virus-vector interactions mediating nonpersistent and semi-persistent transmission of plant viruses // Annu. Rev. Phytopathol. 2006. Vol.44. P. 183-212.
5. Lundström J.O. Mosquito-borne viruses in western Europe: a review // J. Vector Ecol. 1999. Vol.24, N. 1. P. 1–39.
6. Pereira L., Maidji E., McDonagh S., Tabata T. Insights into viral transmission at the uterine-placental interface // Trends Microbiol. 2005. Vol. 13, N. 4. P. 164–174.
7. Pirone T.P. Helper-dependent vector transmission of plant viruses // Annu. Rev. Phytopathol. 1996. Vol. 34. P. 227–247.
8. Taylor C.E., Brown D.J.F. Nematode vectors of plant viruses. Wallingford: CAB International, 1997. 286 pp.

## Розділ 7. Вірусний канцерогенез

### 7.1. Загальні уявлення про канцерогенез

Ракові пухлини людини і тварин з'являються у результаті безперервної проліферації клону клітин, що походить від нормальних клітин тіла. Перетворення здорових клітин на пухлинні, так звана *трансформація*, може відбутися в результаті різноманітних подій, як-от мутації, активація онкогенів та інактивація супресорів пухлин.

Для більшості типів пухлин повна послідовність подій, які призводять до трансформації, залишається не до кінця відомою; вважається, що для цього потрібні від чотирьох до шести кроків. Деякі з них можуть бути запущені середовищними чинниками, у т. ч. деякими хімічними речовинами, деякими формами опромінення і деякими вірусами.

Віруси, здатні викликати пухлини, називають **онкогенними вірусами**. Доказом того, що вірус є онкогенним, слугує, зокрема, постійна присутність вірусної ДНК в клітинах пухлини. У деяких типах пухлин ДНК вірусу інтегрована в хромосому клітини, в інших випадках спостерігаються множинні ковалентно замкнені копії кільцевої ДНК. У багатьох випадках в клітинах пухлини спостерігається експресія одного або декількох генів вірусу, спостерігаються також і вірусні білки. Для деяких типів пухлин участь вірусу у канцерогенезі доведена лише у певній частині випадків, для одних – у більшості, для інших – лише у незначній частки пацієнтів. Тож іноді вірус може будити лише одним з низки канцерогенних чинників, що викликають утворення певного типу пухлин.

### 7.2. Приклади пухлин, виникнення яких пов'язано з вірусами

**Пухлини, пов'язані з папіломавірусами.** Цервікальна карцинома, або рак шийки матки, є третьою з найбільш поширених форм раку у жінок; щорічно у світі трапляються приблизно півмільйона нових випадків виникнення пухлини і близько 280000 смертей. Більшість, якщо не усі, випадки раку шийки матки пов'язані із зараженням папіломавірусами.

У родині папіломавірусів представлені невеликі ДНК-геномні віруси, що вражають ссавців і птахів. Відомо більше 100 типів папіломавірусів людини, що розрізняється за послідовністю ДНК. Вони потрапляють в організм через невеликі садна і заражають клітини (кератиноцити) шкіри або слизової оболонки, що синтезують кератин. Кожен тип вірусу папіломи людини заражає переважні ділянки, наприклад руки або інші місця, і зараження може привести до утворення бородавки (папіломи).

У більшості випадків зараження папіломавірусами не призводить до персистентної інфекції, проте в певній кількості випадків організм хазяїна не очищається імунною системою від вірусів. Люди, у яких залишається персистентна ін-

фекція, мають певний ризик розвитку злоякісної пухлини. Ризик пов'язаний приблизно з 15 типами вірусів папіломи людини; зараження іншими типами папіломавірусів не пов'язане з ризиком канцерогенної трансформації.

Клітинами-хазяями вірусів папіломи є кератиноцити. Ці клітини після диференціювання в нормі припиняють ділення. Проте папіломавірус потребує активної реплікації ДНК в клітинах хазяїна, тому вірус індукує перехід кератиноцитів у фазу S клітинного циклу. Далі клітини зазнають декілька циклів клітинних поділів, які зазвичай обмежені декотрою кількістю. Проте у разі зараження типом вірусу, який відноситься до здатних викликати злоякісну пухлину, ділення можуть тривати неконтрольовано, внаслідок чого і виникає карцинома.

Стадії переходу нормальних клітин в ракові включають ряд морфологічних змін, які можна виявити на мазках кератиноцитів, зокрема шийки матки. У разі виявлення передпухлинних клітин, їх можна убити або видалити, запобігаючи розвитку пухлини. У передпухлинних клітинах завжди виявляється частина генома або увесь геном вірусу папіломи людини: ДНК вірусу інтегрується в хромосому. У цих клітинах цикл реплікації вірусу не завершується, і нові віріони не формуються.

Є також докази, що вірус папіломи людини, що відноситься до типу, здатного викликати рак, є причиною не лише раку матки, але і карцином на інших ділянках тіла, включаючи статеві органи, анус, голову і шию. У цих випадках в клітинах пухлини також міститься ДНК вірусу.

Вірус папіломи людини також бере участь у формуванні досить рідкісної форми раку шкіри, так званої бородавчастої епідермодисплазії, яка має генетичну основу. Підчас цього захворювання люди у край сприйнятливі до зараження вірусом, особливо тих типів, які рідко трапляються в популяції людини, типів 5 і 8. Зараження відбувається в дитинстві, бородавки поширюються по усьому тілу, і в регіонах з високою сонячною радіацією у 25-33% хворих розвиваються так звана плоскоклітинна карцинома або плоскоклітинний рак. У випадку карциноми такого типу, проте, ДНК вірусу нечасто інтегрується в хромосому хазяїна.

**Пухлини, пов'язані з поліомавірусами.** Віріони поліомавірусів виявляються у ссавців і птахів, проте у більшості випадків зараження не викликає симптомів. Введення вірусів в певні види тварин, проте, може індукувати розвиток багатьох видів пухлини. Цей факт і послужив причиною назви вірусів (poly – багато і oma – пухлина, скупчення). Існує низка доказів, що поліомавіруси можуть викликати ряд злоякісних пухлин у людини.

Відомі два поліомавірусу людини: віруси JC і BK. Ці назви є ініціалами людей, з яких вони уперше були виділені. Обидва віруси дуже поширені і виявляються більш ніж у 80% дорослих людей. Ці віруси можуть індукувати пухлини у новонароджених хом'яків і трансформувати клітини в культурі. Доведено, що вони в

деяких випадках пов'язані з певними типами пухлин у людей, особливо з пухлинами мозку. Доказами є присутність ДНК і білків вірусів JC і BK в клітинах пухлини.

Поліомавірус мавп SV40 був уперше виділений в 1960 р. з культури клітин нирки макаки резус. Цю культуру клітин використали для продукування вірусів поліомієліту для отримання вакцини. Процедура контролю якості вакцини передбачала її ведення хом'якам, і у деяких з цих тварин розвинулися пухлини. Надалі було встановлено, що введення SV40 новонародженим хом'якам може викликати карциноми, саркоми, лімфоми і лейкемію, залежно від місця введення вірусу.

Вірус SV40 набув сумної популярності, оскільки цим вірусам була забруднена вакцина від поліомієліту. Незабаром після виявлення, SV40 був виділений з ін'єкційної форми вакцини від поліомієліту, виробленої в період від 1955 до 1961 року. Мабуть, вірус потрапив у вакцину з клітин нирок інфікованих мавп, яких використали для вироблення вакцини. Невідомо, як широко був поширений вірус SV40 у людській популяції до 1950-х років, але показано, що 12% зразків крові німецьких студентів в 1952 р. містили антитіла проти SV40. Вакцини, вживані в країнах колишнього Советського блоку, в Китаї, Японії і Африці, могли бути заражені SV40 до 1980 року. Таким чином, цим вірусом виявилися зараженими мільйони людей.

З часу відкриття вірусу не вщухають спори, чи може він викликати захворювання у людей. Ряд досліджень вказували на те, що цей вірус може бути причиною виникнення злоякісних пухлин. Проте інші дослідники не згодні з тим, що вірус викликає рак. У США National Cancer Institute в 2004 р. заявив про те, що хоча SV40 і викликає рак в деяких модельних тваринах, накопичений істотний об'єм епідеміологічних даних, які свідчать про те, що вірус SV40, ймовірно, не викликає рак у людей.

**Пухлини, пов'язані з вірусом Епштейна-Барр (родина Herpesviridae).** Лімфома Беркіта – це пухлина В-лімфоцитів, яка з високою частотою трапляється у дітей в центральній Африці. Клітини пухлини мають персистентне зараження одним з вірусів герпесу, вірусом Епштейна-Барр. Постійним відхиленням в клітинах пухлини лімфоми Беркіта є перегрупування хромосом, в результаті якого ген *c-myc* розташовується біля енхансеру гена імуноглобуліну. Це призводить до експресії *c-myc* на ненормально високому рівні. Ген *c-myc* кодує білок, що зв'язується з ДНК і є фактором транскрипції. Постійна експресія гена призводить до порушення регуляції багатьох генів, що у тому числі відповідають за проліферацію клітин.

У деяких регіонах світу, окрім Африки, зрідка також спостерігаються випадки лімфоми Беркіта, проте вони не пов'язані з вірусом Епштейна-Барр. В той же час хромосомна перебудова, що призводить до транслокації гена *c-myc* і його некон-

трольованій експресії, знайдена в усіх пухлинах, незалежно від присутності вірусу. Таким чином, вірус є одним з декількох агентів, які можуть індукувати в клітинах таку перебудову хромосом. Але вірус має найбільше значення серед інших можливих чинників в індукції злоякісного росту В-лімфоцитів.

Іншою пухлиною, що асоціюється з вірусом Епштейна-Барр, є носоглоткова карцинома. Ця пухлина, як і лімфома Беркіта, розподілена у світі нерівномірно і трапляється переважно в певних регіонах.

Вірус Епштейна-Барр широко поширений і ним заражена більшість людей. Причини, через які пов'язані з ним пухлини трапляються у людей в основному в певних регіонах, залишаються незрозумілими

З вірусом Епштейна-Барр пов'язані також інші пухлини, а саме:

- деякі випадки лімфоми Ходжкіна;
- неходжкінські лімфоми у хворих СНІД;
- пост-трансплантаційна лімфопроліферативна хвороба.

На відміну від лімфоми Беркіта і носоглоткової карциноми, лімфома Ходжкіна не обмежена певним географічним регіоном. У разі ж неходжкінських лімфом у хворих СНІД і пост-трансплантаційної лімфопроліферативної хвороби, вони спостерігаються у людей з порушеним імунітетом, або в результаті СНІД, або в результаті застосування імуносупресорів.

Онкогенний потенціал вірусу Епштейна-Барр добре проявляється в культурі В-лімфоцитів. Якщо клітини заразити вірусом, вони синтезують цілу низку білків вірусу, які безперервно вводять клітини в клітинний цикл, що призводить до появи лімфобластних клітинних ліній. В організмі людини проліферація таких В-лімфоцитів контролюється Т-клітинами, проте у випадку послаблення Т-клітинного імунітету контроль може виявитися недостатнім, внаслідок чого і розвиваються пухлини.

**Саркома Капоші** уперше було описана в 19-му сторіччі як рідкісна пухлина шкіри, яка розвивалася у літніх людей в середземноморському регіоні. Після появи СНІДу вона стала однією з найбільш звичайних пухлин хворих, і в цьому випадку пухлина поширюється по усьому тілу і стає агресивнішою. Вважають, що клітини пухлини мають походження від ендотеліальних клітин.

У 1994 р. було виявлено, що клітини пухлини містять новий герпесвірус, названий асоційованим з саркомою Капоші герпесвірусом. Вірус виявляється у більшості частин світу, проте переважно поширений тільки в певних регіонах, таких як центральна Африка. Ризик розвитку саркоми Капоші корелює з поширеністю вірусу в популяції.

**Лейкемія зрілих Т-лімфоцитів.** Лейкемія зрілих Т-лімфоцитів пов'язана із зараженням Т-лімфотропним вірусом людини 1 (родина Retroviridae). Регіони світу, де цей вірус широко поширений, наприклад південний захід Японії, мають

і високу поширеність пухлини. Оскільки Т-лімфотропний вірус людини 1 є ретровірусом, кожна клітина пухлини має копію провірусної ДНК, інтегровану в хромосому.

**Гепатоцелюлярна карцинома.** Гепатоцелюлярна карцинома (пухлина печінки) найбільш поширена форма раку печінки. Щорічно у світі від неї вмирає близько 600000 осіб. Причиною пухлини є низка чинників, серед яких вживання мікотоксинів з їжею, і два віруси: вірус гепатиту В і вірус гепатиту С.

Найбільше значення має вірус гепатиту В (родина *Hepadnaviridae*); поширеність пухлини тісно корелює з поширеністю персистентної інфекції вірусу гепатиту В. Найбільш висока поширеність пухлини і вірусу спостерігається в Азії і центральній і південній Африці. У більшості пухлин ДНК вірусу гепатиту В інтегрована в геном клітини, і у більшості випадків вірусна ДНК зазнає перебудови, до складу яких входять делеції.

Інший вірус, пов'язаний з раком печінки, вірус гепатиту С, належить до родини *Flaviviridae*. Це єдиний вірус класу V по класифікації Балтімора, тобто вірус, що містить одноланцюгову (+)РНК, для якого показана онкогенність.

Обидва віруси за умови зараження викликають імунну відповідь. У деяких людей імунна реакція успішно пригнічує інфекцію, проте у багатьох випадках інфекція стає персистентною і зберігається усе життя. У деяких людей, заражених вірусом гепатиту В або вірусом гепатиту С, розвивається цироз печінки, і зрештою часто розвивається рак.

Віруси викликають рак не лише у людини. У різних видів тварин злоякісні пухлини також часто асоційовані з вірусами. Спалахи деяких подібних захворювань представляють серйозну проблему для тваринництва.

### 7.3. Як саме віруси викликають рак

Більшість індукованих вірусами пухлин розвиваються після тривалого періоду персистентної інфекції онкогенного вірусу; наприклад для лейкемії зрілих Т-клітин цей період складає близько 60 років. Вірусна інфекція зберігається в хазяїнові, незважаючи на імунну відповідь, наприклад утворення специфічних для вірусів антитіл. В деяких випадках персистентна інфекція є латентною впродовж тривалого часу, коли експресується незначна кількість генів вірусів, як наприклад це відбувається для вірусу Епштейна-Барр (родина *Herpesviridae*). В інших випадках, наприклад для вірусів гепатиту В і гепатиту С, персистентна інфекція є продуктивною.

Хоча дуже багато людей мають персистентну інфекцію вірусів, які є потенційно онкогенними, тільки у відносно невеликої частки розвиваються пов'язані з вірусами пухлини. Близько 90% людей заражені вірусом Епштейна-Барр, але тільки у невеликої кількості розвиваються пов'язані з цим вірусом пухлини. У

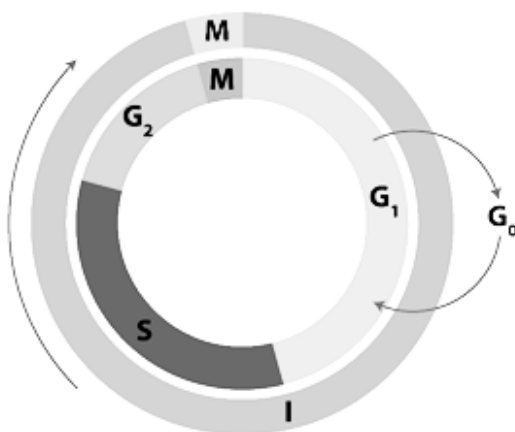
жінок, що мають персистентну інфекцію вірусу папіломи людини, що відноситься до типу з високим ризиком розвитку пухлини, рак шийки матки розвивається приблизно у трьох відсотків. Приблизно такі ж цифри є для людей, які мають персистентне зараження вірусами гепатиту В або гепатиту С, або Т-лімфотропним вірусом людини 1 (родина Retroviridae).

Оскільки злоякісні пухлини розвиваються тільки у невеликої частки людей, заражених вірусами, очевидно, що вірусна інфекція як така не викликає рак. У цьому беруть участь й інші фактори, зокрема дія певних чинників довкілля, генетичні особливості і імунodefіцит.

Імунodefіцит різко посилює ризик розвитку багатьох пов'язаних з вірусами пухлин, і природа імунodefіциту впливає на тип пухлин, які можуть розвиватися. У хворих на СНІД сильніше зростає ризик розвитку саркоми Капоші, ніж у хворих після трансплантації органів, яким дають імунodeпресанти. Але імунodefіцит не збільшує ризику усіх видів раку, пов'язаних з вірусами. Наприклад, хворі на СНІД не мають збільшеного ризику розвитку раку печінки.

Таким чином, ризик розвитку злоякісної пухлини у хазяїна, зараженого онкогенними вірусами, залежить від складної взаємодії між станом хазяїна, чинниками довкілля, які впливають на хазяїна, і змінами в клітинах за умови зараження вірусом.

**Втручання у контроль клітинного циклу.** Для завершення свого циклу реплікації, вірусам необхідно маніпулювати внутрішнім середовищем клітини-хазяїна, яке повинне забезпечити усі потреби вірусу. Деяким вірусам необхідно, щоб клітина була в певній фазі клітинного циклу. Чимало клітин тіла тварини, включаючи людей, діляться повільно або взагалі не діляться; у останньому випадку вони затримуються на фазі G1 клітинного циклу, або як говорять, знаходяться в стані G0 (Мал. 7.1).



**Мал. 7.1.** Клітинний цикл. *I* – інтерфаза – період, коли клітина не ділиться. Поділяється на три фази: *G1* (англ. *first gap*) – пресинтетична фаза, клітина росте, накопичує поживні речовини, виконує свої основні функції; *S* – фаза синтезу, відбувається реплікація ДНК, продовжується ріст клітини; *G2* (англ. *second gap*) – постсинтетична фаза, клітина готується до поділу. *M* – мітоз, поділ ядра, після якого відбувається цитокінез. Контроль клітинного циклу

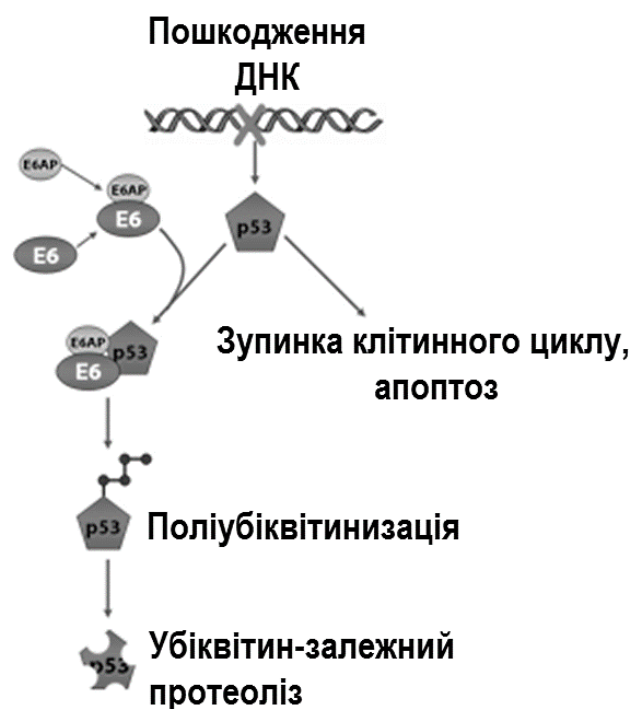


обумовлений багатьма білками; у людини два білки грають ключову роль у цьому контролі. Це білок p53 і білок ретинобластоми (pRb). Останній білок так названий тому, що його відсутність у деяких індивідумів, обумовлена мутацією в обох копіях гена, призводить до розвитку ретинобластоми (злоякісній пухлині сітківки).

Білок p53 – фактор транскрипції, який регулює клітинний цикл. Він виконує функцію супресора утворення злоякісних пухлин. Його часто образно називають «охоронець генома». За відсутності ушкоджень генетичного апарату білок p53 знаходиться в неактивному стані, а за умови появи ушкоджень ДНК активується. Результатом активації p53 є зупинка клітинного циклу і реплікації ДНК; якщо стресовий сигнал сильний – запускається апоптоз. Білок ретинобластоми pRb контролює експресію генів через взаємодію з факторами транскрипції.

Було показано, що декілька білків онкогенних вірусів можуть взаємодіяти з p53, pRb та іншими білками, які контролюють ріст і ділення клітин. Така взаємодія підвищує імовірність того, що клітина почне цикли ділення, що повторюються.

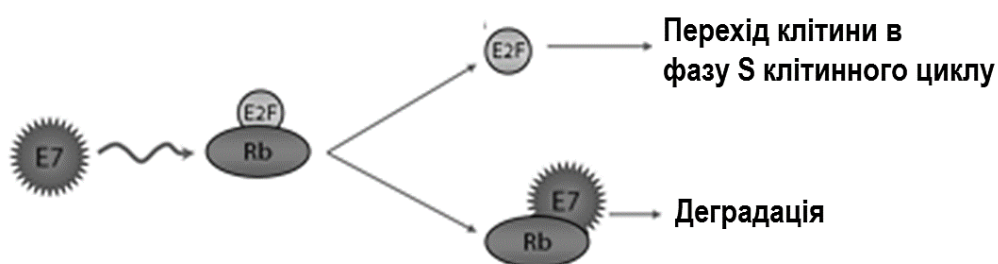
До вірусних білків, які втручаються в контроль клітинного циклу, належать зокрема ранні білки E6 і E7 вірусу папіломи людини (родина Papillomaviridae). Віруси папіломи мають невеликі геноми і для реплікації їм потрібний апарат синтезу ДНК клітини-хазяїна, який доступний у фазі синтезу (S) клітинного циклу. Переходу клітин в цю фазу і сприяють білки E6 і E7. E6 зв'язується з p53, сприяючи деградації цього білка (Мал. 7.2).



**Мал. 7.2.** Ранній білок вірусу папіломи E6 «знешкоджує» протипухлинний білок клітини p53. E6AP – асоційований з E6 білок, що кодується вірусом.

Білок E7 зв'язується з комплексом білків pRb-E2F, що призводить до дисоціації цього комплексу. E2F є фактором транскрипції клітини, який активує синтез ДНК. Підсумком усіх цих взаємодій є перехід клітини у фазу S (Мал. 7.3).

Важливою особливістю типів вірусів папіломи людини, зараження якими призводить до високого ризику розвитку пухлин, є інтеграція усіх частин вірусного генома в хромосому клітини. У пухлинах геном вірусу часто виявляється неповним, але гени E6 і E7 є присутніми постійно. Безперервна експресія цих генів підтримує стан трансформації клітин і їх безперервне ділення.



**Мал. 7.3.** Ранній білок вірусу папіломи E7 індукує перехід клітини у фазу S клітинного циклу через «знешкодження» білка Rb.

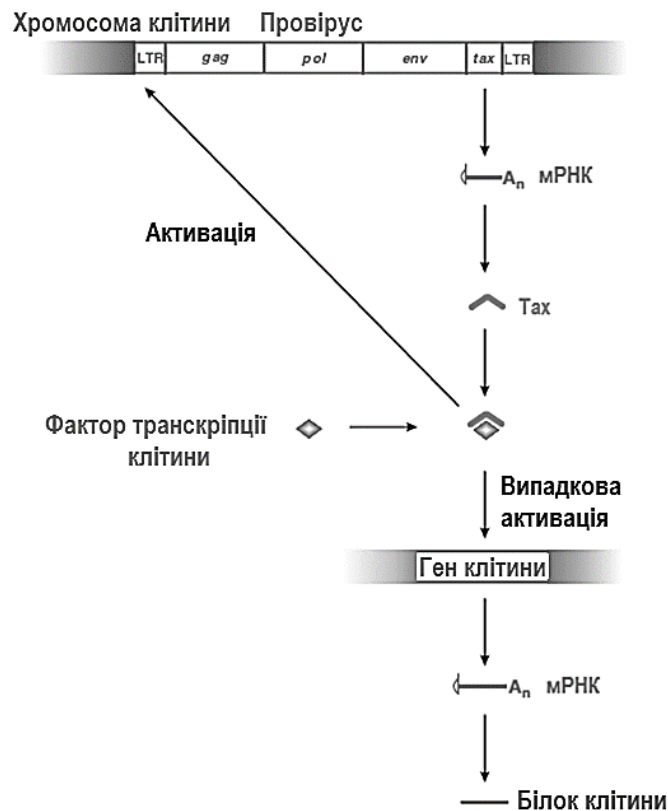
**Випадкова активація генів клітини.** Деякі віруси здатні зв'язуватися з білками клітини, які фактично не є мішенями для білків вірусу. Таке зв'язування може запустити події, які не дають вірусу жодної користі, але можуть бути небезпечними для хазяїна. Білки вірусу можуть, так би мовити, ненавмисно перевести клітину в злоякісний стан за допомогою активації раніше вимкнених генів клітини, або за допомогою посилення експресії генів, які в нормі експресуються на низькому рівні.

Прикладом такого білка є білок Tax Т-лімфотропного вірусу людини 1. Цей вірус є складним ретровірусом, і ген *tax* є одним з його допоміжних генів. Ген експресується на інтегрованому в хромосому провірусі, і білок Tax, зв'язуючись з факторами транскрипції клітини, функціонує як фактор транскрипції для вірусу (Мал. 7.4). Проте білок Tax впливає на експресію багатьох генів клітини, які включають регулятори клітинного циклу.

Деякі ретровіруси індують формування пухлин внаслідок інтеграції їх провірусу в хромосому клітини в такій ділянці, в якій гени клітини-хазяїна виявляються під контролем вірусних промоторів. Це може привести до активації генів, які були вимкнені, або привести до посилення експресії генів, які вже були активні. Деякі гени клітини, які можуть активуватися таким чином, називають протоонкогенами, оскільки їх активація може призвести до розвитку пухлини. Білки, кодовані протоонкогенами, зазвичай залучені в регуляцію генів або контроль клітинного циклу. Прикладом протоонкогена є *c-тус*. Зараження курей вірусом лейкозу птахів може привести до розвитку пухлини, коли провірус вбудовується

в хромосому поряд з *c-myc*. Це призводить до значного підвищення експресії цього гена.

Слід мати на увазі, що активація ретровірусами протоонкогенів може привести до розвитку лейкемії у деяких пацієнтів, у яких ретровірусні вектори використали для генної терапії.



**Мал. 7.4.** Онкогенез за участю білка Tax Т-лімфотропного вірусу людини 1. Білок активує транскрипцію провірусу, але може також випадково активувати експресію генів клітини (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

**Ретровірусні онкогени.** Деякі ретровіруси можуть викликати утворення ракових пухлин, оскільки в їх геномі присутні онкогени; наприклад, вірус саркоми Рауса, що викликає злоякісні пухлини у курей, містить ген *v-src*. Онкогени ретровірусів мають походження від клітинних протоонкогенів і мають з ними близьку спорідненість. У випадку саркоми Рауса онкоген вірусу *v-src* є близьким родичем протоонкогена *c-src*.

Коли протоонкоген мутує або його нормальна експресія порушується, він стає онкогеном. Ген *src*, який бере участь в розвитку багатьох пухлин, кодує протеїнкіназу. Надфосфорилування ферментів-субстратів цієї протеїнкінази є ключовим процесом в розвитку пухлин, пов'язаних з цим геном. Ген *c-myc* кодує фактор транскрипції, і він експресується на ненормально високому рівні у випадку лімфоми Беркіта.

Майже усі ретровіруси, що несуть онкогени, є дефектними в результаті делецій генома. Ці віруси можуть реплікуватися тільки за допомогою ендогенних ретровірусів, або в клітинах, одночасно заражених вірусом-помічником. Наприклад, віруси саркоми мишей є дефектними, і вірусом-помічником може виступати вірус лейкемії мишей. Вірус саркоми Рауса є одним з небагатьох не дефектних ретровірусів, що містять онкоген. У вірусних онкогенів відсутні послідовності, які контролюють експресію клітинних протоонкогенів, тому якщо онкоген ретровірусу експресується в зараженій клітині, його продукт накопичується у більш високих концентраціях, ніж продукт клітинного протоонкогена.

Ретровіруси, що містять онкогени, здатні швидко індукувати розвиток пухлини, зазвичай впродовж 1–6 тижнів після зараження, що контрастує з розвитком пухлин, які індукуються іншими онкогенними вірусами. У останньому випадку пухлина може розвинутиися через роки або навіть десятиліття після встановлення персистентної вірусної інфекції.

#### 7.4. Запобігання розвитку індукованих вірусами ракових пухлин

Логічні підходи до запобігання індукованому вірусами раку включають спроби запобігти передачі вірусів від інфікованих людей неінфікованим, тому знання шляхів передачі вірусів є важливим. Таке знання дозволяє розробити стратегії, спрямовані на зниження ризику передачі вірусу. Наприклад, більшість онкогенних вірусів людини передаються через кров або статевим шляхом, тому застосування методів, розроблених для запобігання поширенню ВІЛ, також знижує ризик зараження онкогенними вірусами.

Іншим підходом до зниження частоти передачі вірусів є вакцинація. Передача вірусу гепатиту В у більшості випадків відбувається від матері до дитини під час пологів, тому в деяких країнах з високою поширеністю вірусу гепатиту В розпочаті програми по вакцинації дітей вакциною проти цього вірусу впродовж перших двох днів після народження. Реалізація такої програми на Тайвані вже понизила частоту раку печінки у дітей, і з часом очікується зниження поширеності цього захворювання і у дорослих. Існують й інші програми вакцинації як людей, так і домашніх тварин.

Альтернативним підходом в запобіганні розвитку індукованих вірусом пухлин є спроби видалення з тіла персистентної інфекції онкогенних вірусів. Проте, за рідкісним винятком часткового контролю вірусу, ці спроби доки не привели до успіху.

Після ознайомлення з цим розділом ви повинні:

- знати головних представників вірусів, які пов'язані з утворенням злоякісних пухлин
- розуміти можливі механізми індукції онкогенезу вірусами
- вміти обґрунтувати можливі заходи, які зменшують імовірність виникнення пов'язаних з вірусами злоякісних пухлин

### Додаткове читання до розділу 7

1. Абелев Г.И., Эрайзер Т.Л. На пути к пониманию природы рака. Обзор // Биохимия. 2008. Т.73, №5. С. 605–618.
2. Уразова Л.Н., Видяева И.Г. Рак шейки матки и вирусы папилломы: этиопатогенетические аспекты (обзор литературы) // Сибирский онкологический журнал. 2009. Т.31, №1. С. 64–72.
3. Чумаков П.М. Белок p53 и его универсальные функции в многоклеточном организме // Успехи биол. химии. 2007. Т. 47, №1. С. 3–52.
4. Blair D.G., Athanasiou M. Ets and retroviruses – transduction and activation of members of the Ets oncogene family in viral oncogenesis // Oncogene. 2000. Vol. 19, N. 55. P. 6472–6481.
5. Butel J.S. Viral carcinogenesis: revelation of molecular mechanisms and etiology of human disease // Carcinogenesis. 2000. Vol. 21, N. 3. P. 405–426.
6. Javier R.T., Butel J.S. The history of tumor virology // Cancer Res. 2008. Vol. 68, N. 19. P. 7693–7706.
7. Mesri E.A., Cesarman E., Boshoff C. Kaposi's sarcoma and its associated herpesvirus // Nat. Rev. Cancer. 2010. Vol. 10, N. 10. P. 707–719.
8. Tsai W.L., Chung R.T. Viral hepatocarcinogenesis // Oncogene. 2010. Vol. 29, N. 16. P. 2309–2324.
9. Weitzman M.D., Lilley C.E., Chaurushiya M.S. Genomes in conflict: maintaining genome integrity during virus infection // Annu. Rev. Microbiol. 2010. Vol.64. P. 61–81.
10. Zheng Z.M. Viral oncogenes, noncoding RNAs, and RNA splicing in human tumor viruses // Int. J. Biol. Sci. 2010. Vol. 6, N. 7. P. 730–755.

## Розділ 8. Засоби боротьби з хворобами, що викликаються вірусами

### 8.1. Вірусні вакцини

Термін «вакцина» походить від латинського слова *vacca* (корова) і означає препарат, що складається з ослаблених, вбитих збудників хвороб та їхніх фрагментів. Усі ці складові покликані індукувати в людини або тварин набутий імунітет. В результаті застосування вакцин у вакцинованому організмі формується імунологічна пам'ять, завдяки чому, після потрапляння в організм повноцінного вірусу реакції імунітету запускаються швидко й інтенсивно. Для встановлення досить потужної імунологічної пам'яті необхідно, щоб вакцина спричиняла енергійні, яскраво виражені реакції імунітету; іншими словами, для вакцин потрібний вірусний матеріал з високими імуногенними властивостями.

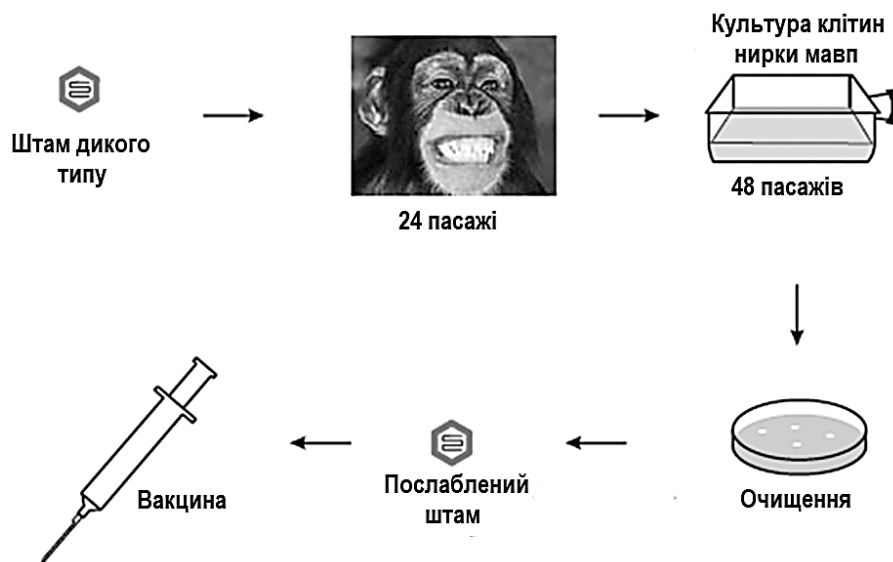
Сьогодні існують ефективні вакцини проти дуже багатьох вірусів, у т. ч. вірусів віспи, поліомієліту, краснухи, кору, ящура. Проте щодо багатьох інших вірусів, таких як ВІЛ, віруси гепатиту С, лихоманки Ебола або простого герпесу, спроби розробити вакцини доки не призвели до успіху. Цьому є різні причини, серед яких однією з найважливіших є мінливість антигенних варіантів вірусів.

Нижче ми розглянемо основні типи вірусних вакцин.

**Живі послаблені вірусні вакцини.** Живі послаблені (атенуйовані) вакцини містять мутантні штами вірусу, які мають походження від вірулентного штаму дикого типу. Вакцини такого виду мають ряд переваг перед вакцинами інших видів. Однією з переваг є те, що в тілі накопичується збільшена кількість вірусних антигенів завдяки реплікації вірусу. Іншою перевагою є та, що імунна реакція є досить активною і в ній беруть участь В-лімфоцити, CD4 Т-лімфоцити і CD8 (цитотоксичні) Т-лімфоцити.

Жива вакцина обов'язково повинна мати дві властивості. По-перше, її антигени мають бути ідентичними антигенам штаму дикого типу або високо подібними до них, щоб імунна відповідь проти вірусу вакцини забезпечував захист і проти вірусу дикого типу. По-друге, вірус, присутній у вакцині, повинен мати дуже низьку вірулентність або не бути вірулентним взагалі.

Більшість послаблених вірусних вакцин отримують в результаті процедур типу повторних пасажів вірусу дикого типу в клітинах, не споріднених нормальному хазяїну. Вакцина штамів трьох серотипів вірусу поліомієліту (родина *Picornaviridae*), який був послаблений внаслідок втрати здатності вражати нервові клітини, була отримана шляхом пасажів штамів дикого типу в мавпах і культурі клітин нирки мавпи. Цю піонерську роботу виконав Альберт Себін (Albert Sabin) у 1953–1957 рр. (Мал. 8.1).



*Мал. 8.1. Отримання послабленого штаму вірусу поліомієліту для живої вакцини (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).*

Мутації, які відповідальні за послаблення вірусу поліомієліту дикого типу, добре відомі: в геномній РНК вірусу вакцини в ділянці, що зветься домен 5, сталися заміни одного нуклеотиду на інший.

З використанням підходу, аналогічного використаному А. Себіним, отримують низку інших послаблених вакцин, зокрема вірусів свинки, кору, краснухи, жовтої лихоманки, чуми собак.

При виготовленні живих послаблених вірусних вакцин, використовують не тільки повторні пасажі вірусу дикого типу в не споріднених хазяїну клітинах. До інших підходів, які вживають з цією метою, належать такі:

- **«адаптовані до холоду» штами вірусів.** Такі вакцини отримують шляхом інкубацією заражених вірусом клітинних культур в умовах температур, нижчих оптимальних для реплікації вірусу. «Адаптовані до холоду» штами вірусів зі зниженою вірулентністю використовують для приготування вакцин вірусу грипу і респіраторно-синцитіального вірусу (викликає інфекції дихальних шляхів).

- **використання реасортантів.** Такі вакцини містять реасортанти ротавірусів, у яких деякі гени належать вірусу людини, а інші – вірусу тварин.

- **використання зворотної генетики** дозволяє конструювати геноми вірусів для приготування вакцини, що мають пониженою вірулентністю, наприклад завдяки цілеспрямованому мутагенезу.

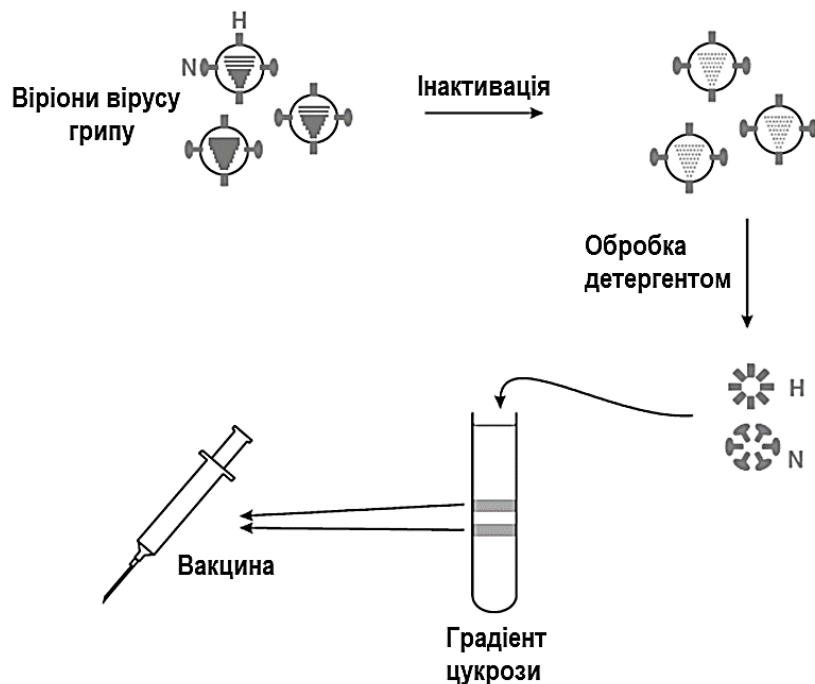
**Інактивовані вірусні вакцини.** Не зважаючи на усі переваги використання живих послаблених вірусів, залишається небезпека зворотної мутації протягом реплікації вірусів, яка поверне вірусу високу вірулентність. Також є небезпека формування рекомбінантних штамів між вірусом вакцини і вірусом дикого типу. Через таку небезпеку, у багатьох країнах перейшли від використання послабленої вірусної вакцини проти поліомієліту до використання інактивованої вакцини.

Інактивовані, або убиті вірусні вакцини готують в умовах масового виробництва вірулентних штамів вірусу. Отримані віруси позбавляють інфекційності, зазвичай обробкою хімічними препаратами типу формальдегіду. Складність методу полягає в підборі комбінації хімічних препаратів і часу реакції, які повністю інактивують вірус, але залишають його антигени досить незмінними, так що вони залишаються здатними викликати захисний імунний відгук.

Такий метод був використаний Джонасом Солком (Jonas Salk) для обробки вірусу поліомієліту, що привело до розробки вакцини, що носить ім'я Солка, яка була офіційно впроваджена в 1955 році. Обробка вірусу поліомієліту включає суспендування вірусу в розчині формаліну за температури 37° С впродовж 10 діб. Іншими прикладами убитих вакцин є інактивовані віріони вірусу грипу, гепатиту А і ящура.

Оскільки для виробництва інактивованих вакцин використовуються вірулентні штами вірусу, украй важливо мати гарантію інактивації вірусу на 100%. Необхідність такої гарантії стала найбільш очевидною після випадку в США в 1955 р., коли чотири мільйони доз недостатньо інактивованої вакцини Солка були використані для вакцинації дітей. Серед вакцинованих виявилися 204 випадки паралітичної форми поліомієліту і 11 смертей.

**Вакцини з субодиноць віріонів.** Вакцини з субодиноць віріонів містять очищені компоненти віріонів. У випадку вірусів грипу (родина Orthomyxoviridae) вакцини містять поверхневі глікопротеїни гемаглютинин (H) і нейрамінідазу (N). Метод виробництва такої вакцини показаний на Мал. 8.2.



**Мал. 8.2.** Схема отримання вакцини з субодиноць віріонів вірусу грипу (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).



Інфекційність віріонів вірусів грипу інактивується формальдегідом або  $\beta$ -пропіолактоном, далі оболонка віріонів видаляється обробкою детергентами, таким як Тритон Х-100. Це вивільняє глікопротеїни, які очищають центрифугуванням в градієнті щільності цукрози і потім об'єднують для отримання вакцини.

Слід мати на увазі, що вакцина з субодиниць зазвичай викликає слабкішу імунну реакцію, тому для встановлення адекватного імунітету зазвичай потрібно декілька доз.

**Використання вірусоподібних часток.** Вірусоподібні частки є структурами, зібраними з вірусних білків. Ці частки нагадують віріон, проте в них немає ніякої нуклеїнової кислоти, і вони є безпечнішими, ніж вакцини з послабленими або інактивованими вірусами.

Саме так виготовляється вакцина проти вірусу гепатиту В (родина *Herpesviridae*). Для її виробництва використовують дріжджі, в геном яких вставлений ген вірусного білка. Після наростання культури трансгенних дріжджів, їх руйнують для вивільнення вірусного білка. Після очищення, молекули піддають хімічній обробці, що викликає їх агрегацію в сферичні структури, подібні до неінфекційних часток, що утворюються протягом зараження вірусом гепатиту В людей.

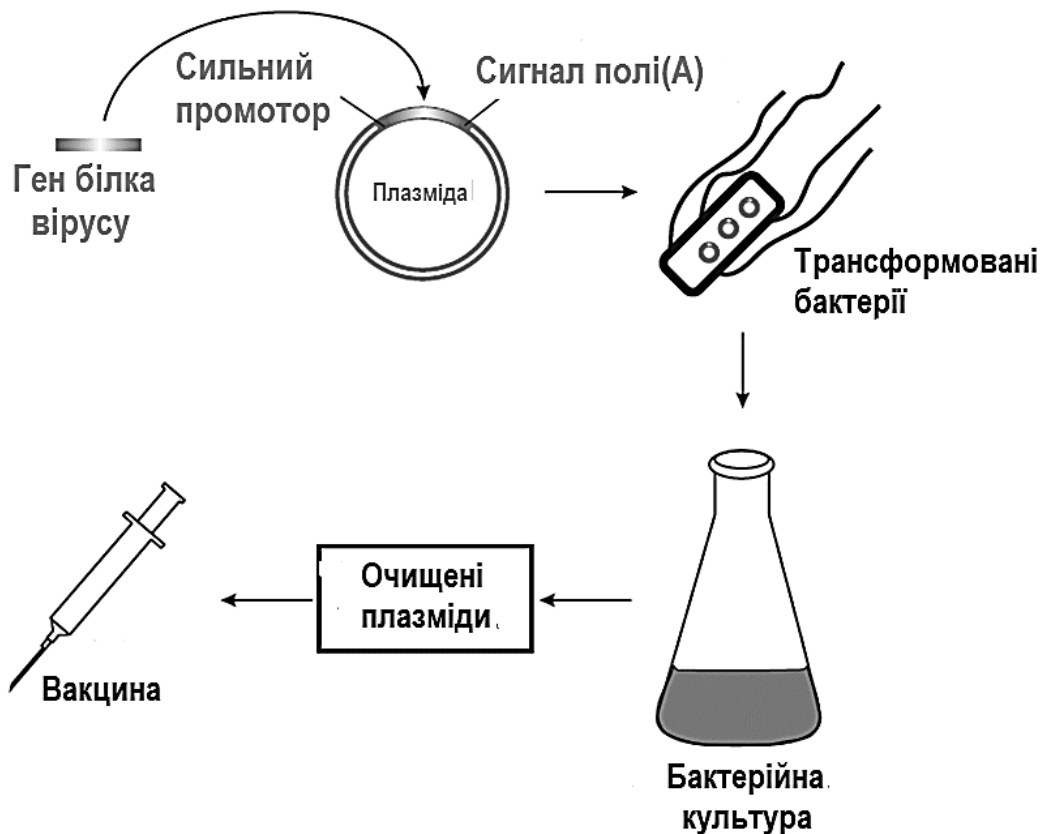
Аналогічно отримують вакцину проти вірусу папіломи людини. Основний білок капсиду вірусу здатний до самозбирання у вірусоподібні структури, які містять епітоп, необхідний для вироблення противірусних антитіл. Білок вірусу папіломи отримують з використанням клітин або комах, або дріжджів.

**Вакцини, що містять синтетичні пептиди.** Кожен білковий антиген має один або більше епітопів. Ці короткі амінокислотні послідовності можна синтезувати штучно, і передбачається, що отримані пептиди можуть бути використані як вакцини. В порівнянні з традиційними вакцинами, в них легше забезпечити відсутність забруднень.

Була виконана низка робіт в спробі розробити пептидні вакцини проти вірусу ящура (родина *Picornaviridae*). У цього вірусу важливим є епітоп в межах білка VP1. Синтетичні пептиди, що мають послідовність цього епітопа, забезпечували прийнятний рівень захисних антитіл у лабораторних тварин, але під час випробувань у тварин на фермах результати доки виявилися такими, що розчаровують.

**Вакцини, що містять ДНК.** Найбільш революційним підходом до вакцинації є введення об'єкту, що вакцинується, ДНК, яка кодує антиген, з метою викликати у вакцинованого об'єкту синтез антигена. Однією з переваг такого підходу є те, що він забезпечує стабільне виділення нового антигена для стимуляції імунної системи, як і жива вірусна вакцина. Оскільки антиген, тобто в даному випадку білок вірусу, продукується усередині клітин вакцинованого об'єкту, є вірогідним стимулювати достатню обумовлену Т-лімфоцитами імунну відповідь.

Процедура отримання ДНК-вакцини показана на Мал. 9.3. Послідовність, що кодує антиген, отримують безпосередньо з ДНК-вірусів або за допомогою зворотної транскрипції з РНК-вірусів. Надалі її вставляють в плазмиду між сильним промотором і сигналом полі(А). Плазміда реплікується в клітинах бактерій і надалі очищається для використання у якості вакцини. Введення вакцини може бути проведене або ін'єкцією в м'яз, або з використанням методу «генної гармати», коли мікроскопічні частки золота, покриті ДНК, доставляється безпосередньо в клітини шкіри.



*Мал. 8.3. Схема отримання ДНК-вакцини (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).*

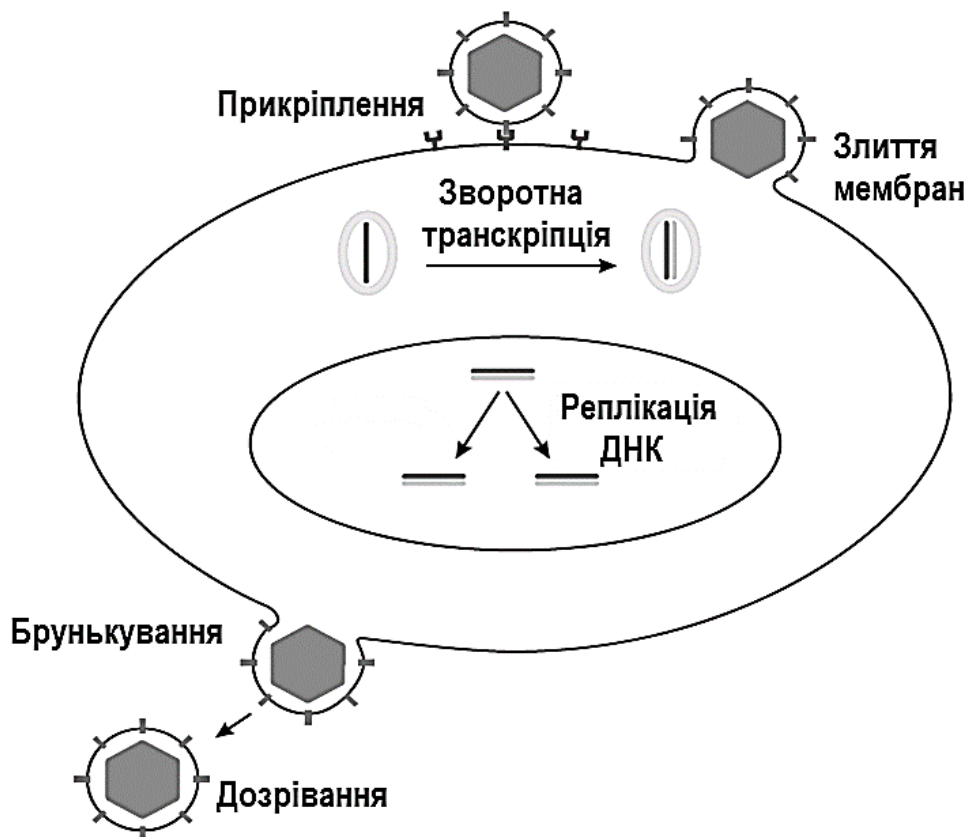
Експериментальні ДНК-вакцини були розроблені для низки вірусів, включаючи ВІЛ-1, коронавірус атипової пневмонії, вірус Західного Ніла і вірус ящура. Випробування проводили на мишах, свинях, конях і людях. Проте до того, як такі вакцини потраплять в клінічну практику, необхідно вирішити декілька проблем, пов'язаних з безпекою. Зокрема, потрібна гарантія, що введення ДНК не ініціює автоімунного захворювання, а також що ДНК, що вводиться, під час вбудовування в геном хазяїна не викличе мутацій, що призведуть до злоякісної трансформації.

## 8.2. Протівірусні препарати

Впродовж тривалого часу було дуже мало протівірусних препаратів для клінічного застосування, порівняно з антибактеріальними і антигрибними ліками. Причина цього полягала в тому, що важко було знайти сполуки, які б специфічно втручалися в активність, пов'язану з вірусом, і не робили значного шкідливого впливу на активність клітини-хазяїна. Останнім часом, проте, стало відомо чимало специфічних для вірусів реакцій, які можуть бути об'єктами дії протівірусних засобів.

Раніше протягом пошуку антивірусних препаратів проводили скринінг серед дуже великої кількості сполук, які могли б мати протівірусну активність. Процедура скринінгу включає перевірку розчинів речовин проти низки вірусів, що ростуть в клітинних культурах.

Нині створення антивірусних препаратів головним чином засноване на їх дії на певну активність вірусу (Мал. 8.4). Після вибору відповідного виду діяльності вірусу, необхідно вибрати належний вірусний білок, який буде мішенню дії препарату, наприклад фермент вірусу. Далі визначають детальну тривимірну структуру білка, використовуючи такі методи, як рентгеноструктурна кристалографія, і в білка вибирається цільовий сайт дії. Надалі з використанням комп'ютерних програм визначаються речовини, які зв'язуватимуться з цільовим сайтом і інгібуватимуть активність вірусного білка.



**Мал. 8.4.** Деякі стадії патогенезу вірусних інфекцій, що є потенційними мішенями протівірусних препаратів (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Слід враховувати, що препарати, які мають клінічне застосування, повинні тільки інгібувати реплікацію вірусу, але не повинні чинити шкідливої дії на хазяїна, або така дія має бути слабкою. Тому під час розробках препаратів проводяться інтенсивні дослідження по впливу потенційних ліків на незаражені клітини і увесь організм. У будь-якому випадку, за концентрації, яка забезпечує достатній рівень пригнічення реплікації вірусів, потенційний протівірусний препарат не повинен блокувати синтез ДНК в незаражених клітинах організму або блокувати ділення незаражених клітин.

### **Приклади антивірусних препаратів, які мають клінічне застосування.**

**А. Аналоги нуклеозидів.** Низка антивірусних ліків є синтетичними сполуками, структурно подібними нуклеозидам, і вони діють, втручаючись в синтез нуклеїнової кислоти вірусу. Після поглинання клітиною, аналоги нуклеозидів, подібно природним нуклеозидам, фосфорилуються і стають аналогами нуклеотидів. Таким чином, активною формою препарату є трифосфатпохідні аналогів нуклеозидів; вони діють як конкурентні інгібітори вірусної полімерази, наприклад зворотної транскриптази. Під час синтезу нуклеїнової кислоти, якщо один з цих аналогів нуклеотидів вбудовується в зростаючий ланцюг, синтез припиняється, тому що структура аналогів нуклеотидів запобігає приєднанню наступного нуклеотиду.

Приклади аналогів нуклеозидів, які використовують з метою лікування вірусних інфекцій, наведені на Мал. 8.5.

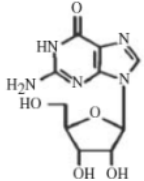
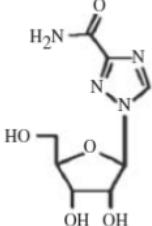
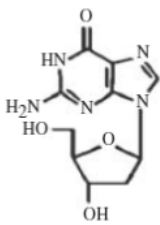
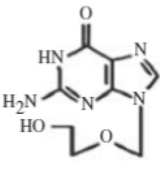
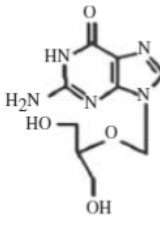
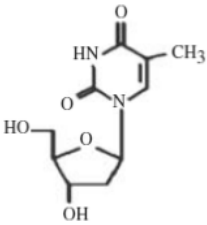
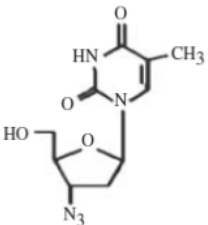
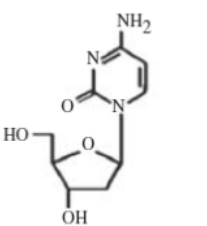
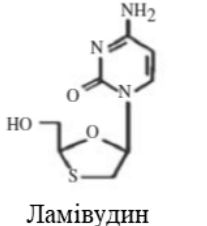
#### **A1. Рибавірин**

Рибавірин є аналогом гуанозину. Він використовується для лікування інфекцій, викликаних деякими РНК-вірусами, особливо персистентної інфекції вірусу гепатиту С. Комбіноване лікування  $\alpha$ -інтерфероном і рибавірином знищує вірус гепатиту С у багатьох пацієнтів.

Механізм дії рибавірина не повністю зрозумілий, для його пояснення висувається ціла низка гіпотез. Препарат, як встановлено, інгібує декілька типів активності вірусу, включаючи синтез вірусною РНК і кепування мРНК, і є вірогідним, що він має більше за один спосіб дії.

#### **A2. Аналоги нуклеозидів, які інгібують синтез ДНК герпесвірусів**

*Ацикловір* є аналогом гуанозину. Це – безпечні ліки, з практично відсутніми побічними ефектами. Його використовують для лікування і профілактики захворювань, викликаних вірусами простого герпесу 1 і 2 і вірусом вітрянки. Його застосування запобігає появі лихоманки і висипань, знижує смертність від викликаного герпесвірусами енцефаліту і значно знижує прояв оперізувального лишая.

Нуклеозид	Аналог нуклеозиду
 Гуанозин	 Рибавірин
 2'-Дезоксигуанозин	<div style="display: inline-block; width: 45%; text-align: center;">             Ацикловір         </div> <div style="display: inline-block; width: 45%; text-align: center;">             Ганцикловір         </div>
 2'- Дезокситимідин	 Азидотимідин
 2'- Дезоксицитидин	 Ламівудин

**Мал. 8.5.** Аналоги нуклеозидів, що використовуються як противірусні препарати.

Ацикловір значно інгібує синтез ДНК вірусу, але справляє дуже слабкий ефект на синтез ДНК клітини. У заражених герпесвірусами клітинах, перше фосфорилювання ацикловіру здійснюється вірусною тимідинкіназою. Тимідинкінази клітини з'являються тільки на певних стадіях клітинного циклу і мають набагато меншу спорідненість до ацикловіру, ніж фермент вірусу, тому фосфорилювання ацикловіру в незаражених клітинах практично не відбувається.

Впродовж синтезу ДНК, трифосфат ацикловіру конкурує з дезоксигуанозинтрифосфатом за включення в ланцюг, що синтезується. Коли він вставляється, синтез ДНК припиняється, оскільки у нього відсутня 3'-ОН група.

Ганцикловір, як і ацикловір, є аналогом гуанозину, і перше його фосфорилювання в клітині виконується протеїнкіназою вірусу. Проте включення ганцикловіру в ДНК клітини значно ймовірніше, ніж включення ацикловіру, внаслідок

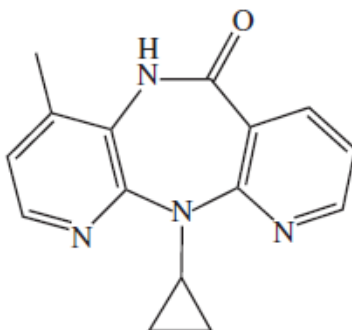
чого ганцикловір має значні побічні ефекти, зокрема викликає зниження кількості клітин крові через пошкодження клітин кісткового мозку. Ганцикловір використовують для боротьби із зараженням цитомегаловірусом, стосовно якого акцикловір є менш ефективним.

### **А3. Аналоги нуклеозидів, які інгібують зворотну транскрипцію**

Аналогом тимідину є азидотимідин. Він досліджувався як протипухлинні ліки, і було виявлено, що він інгібуює зворотну транскриптазу ВІЛ (родина Retroviridae). Як і інші аналогів нуклеозидів, він фосфорилується до трифосфату після поглинання клітиною. Азидотимідин трифосфат сильніше зв'язується із зворотною транскриптазою вірусу, ніж з ДНК-полімеразою клітини, і зворотна транскриптаза переважно включає до складу ДНК саме його, а не дезокситимідинтрифосфат. Таким чином, азидотимідин інгібуює зворотну транскриптазу ВІЛ. Проте він все-таки втручається в синтез клітинної ДНК, і аналогічно ганцикловіру, може пошкодити клітини кісткового мозку.

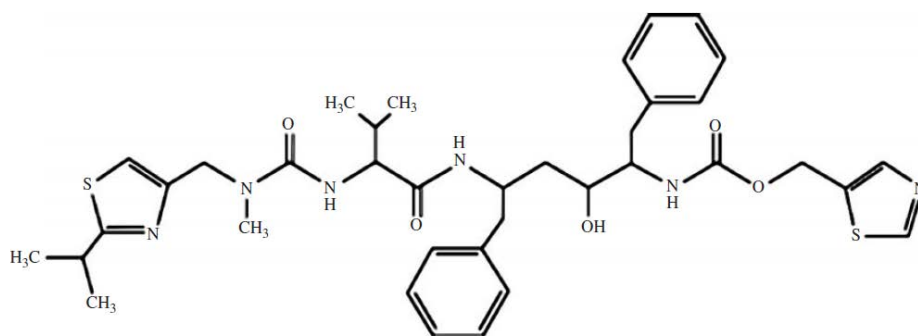
Є також ряд інших аналогів нуклеозидів (наприклад ламівудин), які інгібують зворотну транскриптазу ВІЛ і вірусу гепатиту В (родина Hepadnaviridae).

**Б. Ненуклеозидні інгібітори зворотної транскрипції.** З використанням раціонального дизайну молекул були розроблені декілька ненуклеозидних інгібіторів зворотної транскриптази ВІЛ. Прикладом таких інгібіторів є невірапін (Мал. 9.6). З'єднуючись зі зворотною траскриптазою, він блокує активність РНК-залежної і ДНК-залежної полімерази.



*Мал. 8.6. Невірапін - інгібітор зворотної транскриптази ВІЛ, який не є аналогом нуклеозидів.*

**В. Інгібітори протеази ВІЛ.** Дозрівання віріонів ретровірусів включає розрізання вірусною протеазою білків Gag і Gag-Pol з утворенням білків віріонів. Продукти розрізання білка Gag формують матрикс, а білка Gag-Pol є ферментами віріона. Якщо розрізання не відбувається, віріони ВІЛ не стають інфекційними. Були розроблені пептиди, які імітують сайти розрізання білків, і ці продукти зв'язуються з активним сайтом протеази ВІЛ. Внаслідок такого зв'язування від заражених ВІЛ клітин відбруньковується мало віріонів, а віріони, що відбрунькувалися, є неінфекційними. Прикладом інгібітору протеази ВІЛ є ритонавір (Мал. 8.7).



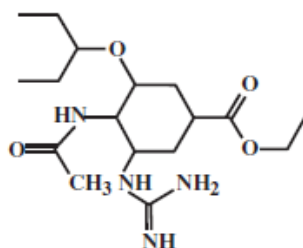
Мал. 8.7. Ритонавір - пептидний інгібітор протеази ВІЛ.

**Г. Інгібітори злиття ВІЛ.** Після того, як віріон ВІЛ-1 зв'яжеться з рецептором, трансмембранний глікопротеїн gp41 повинен забезпечити злиття ліпідної оболонки віріона з мембраною клітини, щоб вміст віріона міг вивільнитися в цитоплазму. Для того, щоб це сталося, gp41 зазнає ряд конформаційних змін, які ініціюються зв'язуванням вірусу з рецептором і корецепторами на поверхні клітини.

Була розроблена низка ліків, які інгібують злиття мембран ВІЛ-1 і потенційної клітини-хазяїна. Вони зв'язуються з gp41 і інгібують конформаційні зміни. Прикладом такого препарату є енфувіртид, що складається з 36 амінокислот, який зв'язується з послідовністю в регіоні gp41, який взаємодіє з іншою послідовністю gp41, викликаючи конформаційні зміни. Такими чином, на відміну від інших засобів, діючих проти ВІЛ, енфувіртид запобігає зараженню клітин ВІЛ-1. Набагато менш активним препарат є щодо ВІЛ-2, трансмембранний глікопротеїн якого тільки віддалено споріднений глікопротеїну ВІЛ-1. Одним з недоліків енфувіртиду є те, що він повинен вводитися у вигляді підшкірних ін'єкцій, тоді як інші препарати для боротьби з ВІЛ приймаються оральним шляхом.

**Д. Інгібітори нейрамінідази вірусів грипу.** Одним з поверхневих білків вірусів грипу типу А і В (родина Orthomyxoviridae) є нейрамінідаза. Цей фермент грає ключову роль впродовж завершальної стадії брунькування віріонів на заражених клітинах; у випадку інгібування ферменту, віріони не вивільняються. Кожен виступ нейрамінідази на поверхні віріона складається з чотирьох мономерів, кожен з яких у свою чергу складається з «кульки» на «паличці».

У 1983 р. нейрамінідаза вірусу грипу була отримана в кристалічному вигляді, і була визначена її структура. Було встановлено, що мономери мають глибоку щілину, і ця щілина є активним сайтом ферменту. Були розроблені сполуки, які зв'язуються з щілиною, і низка з цих сполук інгібує активність нейрамінідази. Одна з таких сполук, озельтамівір (відомий також під патентованою назвою Таміфлю), використовується як ліки проти вірусу грипу (Мал. 9.8).



*Мал. 8.8. Озельтамівір – інгібітор нейрамінідази вірусу грипу.*

**Стійкість вірусів до антивірусних препаратів.** Незабаром після введення антивірусних препаратів в клінічну практику, почали з'являтися стійкі до препаратів штами вірусів. Подібно до стійких до антибіотиків штамів бактерій і стійких до пестицидів шкідливих організмів, це стало результатом тиску добору. Таким чином, почали швидко виникати стійкі генотипи вірусів, особливо РНК-геномних вірусів, і такі генотипи отримували селективну перевагу і ставали доміантними в організмі хазяїна, в якому були присутніми ліки.

Стійкі штами вірусів мають одну або більше мутацій в генах, які кодують білки, що є мішенями для антивірусних ліків. У гені зворотної транскриптази ВІЛ-1 (родина *Retroviridae*) мутації, що забезпечують стійкість до аналогів нуклеозидів і до інгібіторів не нуклеозидної природи, відбуваються в різних кодонах. Деякі мутації забезпечують множинну стійкість, тобто стійкість до різних типів ліків. Більшість мутацій, спостережуваних у ВІЛ-1, є замінами амінокислот; проте деякі мутації являються делеціями або інсерціями.

Виникнення стійких штамів вірусу являє клінічну проблему. У такому випадку необхідно застосовувати альтернативні ліки. Нині стандарт лікування, наприклад, інфекції ВІЛ передбачає використання декількох препаратів в комбінації. Приміром, можуть використовуватися два інгібітори зворотної транскриптази і інгібітор протеази. Імовірність появи в організмі хворого штаму вірусу, одночасно стійкого до усіх ліків, дуже мала. Такий підхід називають високоактивною антиретровірусною терапією (ВААРТ). ВААРТ не звільнює тіло пацієнта від ВІЛ-інфекції: персистентна інфекція зберігається в латентній формі в заражених макрофагах і CD4 Т-клітинах пам'яті і деяких інших схованках, де інфіковані клітини можуть уникнути дії противірусного препарату і/або імунної реакції організму. Але ВААРТ значно знижує смертність від СНІДу у розвинених країнах і ризик передачі ВІЛ дитині від ВІЛ-інфікованої матері.

Окрім появи стійких до ліків штамів вірусів, є інші проблеми, пов'язані з антивірусною терапією. Так, більшість ліків не видаляє вірус з тіла пацієнта, і чимало лікарських препаратів мають значні побічні ефекти. Для багатьох вірусних хвороб взагалі досі не розроблені відповідні засоби лікування. З цієї причини дослідження в області розробки нових антивірусних препаратів активно прово-



дяться; зокрема, відшукаються можливості використання активації антивірусного захисту самого організму, зокрема в цьому плані дуже привабливим виглядає сайленсинг РНК.

Після ознайомлення з цим розділом ви повинні:

- пояснювати, яким чином протівірусні вакцини допомагають контролювати вірусні захворювання
- знати переваги і недоліки головних типів протівірусних вакцин
- знати основу методів отримання протівірусних вакцин
- знати головні механізми дії протівірусних препаратів
- розуміти причини виникнення стійких до дії препаратів штамів вірусів

#### **Додаткове читання до розділу 8.**

1. Глава IVol. Противовирусные препараты. В кн. Страчунский Л.С., Козлов С. Н. Современная антимикробная химиотерапия. Руководство для врачей. М.: Боргес, 2002. 432 с.
2. Романцов М.Г., Ершов Ф.И., Коваленко А.Л. Противовирусные препараты для лечения орви и гриппа у детей (клинический обзор) // Фундаментальные исследования. 2010. №9. С. 76–87.
3. Antonelli G., Turriziani O. Antiviral therapy: old and current issues // Int. J. Antimicrob. Agents. 2012. Vol. 40, N. 2. P. 95–102.
4. De Clercq E. Antivirals and antiviral strategies // Nat Rev Microbiol. 2004. Vol.2, N. 9. P. 704–720.
5. De Clercq E. Antiretroviral drugs // Curr. Opin. Pharmacol. 2010. Vol.10, N. 5. P. 507–515.
6. Silva J.M.; Hammond S.M.; Hannon G.J. RNA interference: a promising approach to antiviral therapy? // Trends in Molec. Med. 2002. Vol. 8, N. 11. P. 505–508.
7. Simons C., Wu Q., Htar T.T. Recent advances in antiviral nucleoside and nucleotide therapeutics // Curr. Top. Med. Chem. 2005. Vol. 5, N. 13. P. 1191–1203.

## Розділ 9. Патогенез пріонних захворювань

### 9.1. Загальні відомості про пріони

Деякі інфекційні хвороби людини і тварин викликаються інфекційними агентами білкової природи – пріонами. Пріони не є вірусами, однак більшість присвячених їм досліджень публікуються в журналах з проблем вірусології; пріони фактично за замовчанням були віднесені до царини вірусології.

Для захворювань, що викликаються пріонами, є характерним дуже тривалий інкубаційний період – часто він вимірюється роками. Ознаки захворювання, викликаного пріонами, включають недоумство і втрату координації, пацієнт деградує, захворювання завершується неминучою смертю.

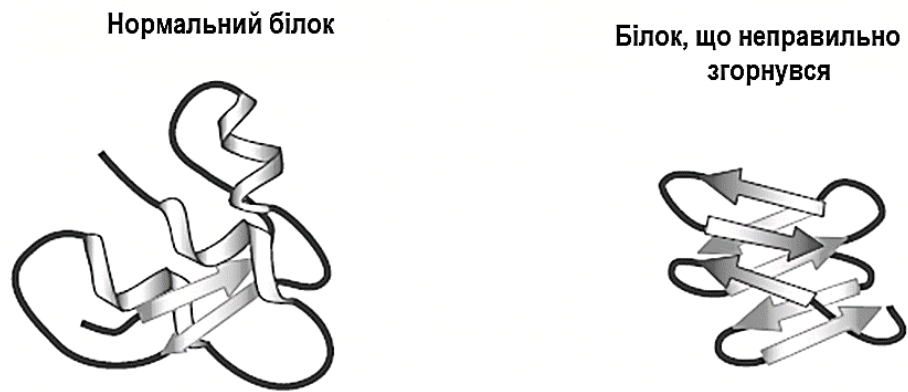
Хвороби, що викликаються пріонами, носять загальну назву трансмісивні губчасті енцефалопатії (ТГЕ). Слово «енцефалопатія» означає захворювання мозку, а слово «губчаста» вказує на формування в мозковій тканині отворів, що нагадують їх подібність до губки. Нарешті, слово «трансмісивні» означає, що захворювання може передаватися за допомогою інфекційного агента від однієї особини цього виду іншій особині цього ж виду, або іноді від особини одного виду особині іншого виду.

### 9.2. Природа пріонів

Інфекційні агенти, які викликають ТГЕ, не містять нуклеїнових кислот; вони є формами нормального білка клітини, що неправильно згорнулися. «Тільки білкова» гіпотеза сутності пріонів була розроблена американським лікарем Стенлі Прузінером (Stanley Prusiner), який і запропонував термін «пріони» (від англ. proteinaceous infectious particles – білкові заразні частинки).

Версії нормального білка клітини були знайдені у ссавців, птахів і рептилій; у людини цей білок кодується геном *Prnp*. Роль нормальної форми білка в клітині досі не зовсім ясна. Він циклічно переміщається між ендосомами і поверхнею клітини, де закріплюється в плазматичній мембрані за рахунок гідрофобного «якоря» на С-кінці. Білок *Prnp* знайдений у багатьох типах клітин, але особливо численний в клітинах центральної нервової системи.

У нормальній формі білок має вторинну структуру, яка містить 42%  $\alpha$ -спіралей і 3%  $\beta$ -листів, тоді як у вигляді форми, що неправильно згорнулася, доля ділянок з  $\alpha$ -спіралями зменшується до 30%, а доля ділянок з  $\beta$ -листами зростає до 43% (Мал. 9.1). Така зміна конформації супроводжується зміною властивостей білка. Якщо нормальний білок повністю руйнується протеїназою К, то білок, що неправильно згорнувся, високо стійкий до дії ферменту. Помилкове згортання також робить білок нерозчинним в неіонних детергентах. У тканинах, що містять пріони, молекули білків, що неправильно згорнулися, формують агрегати у вигляді фібрил, паличок або інших форм, залежно від виду хазяїна і штаму пріона.

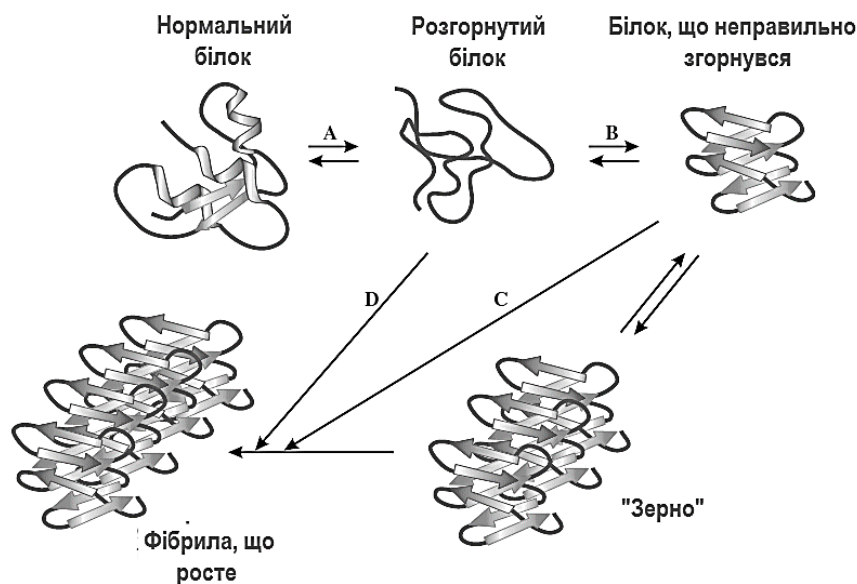


**Мал. 9.1.** Схематичне зображення нормальної і неправильно згорнутої форми пріона. Неправильно згорнута форма, у порівнянні з нормальною, має більше  $\beta$ -листів (показані стрілками) (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Щодо нормальної форми білків і форми білків, що неправильно згорнулися, використовуються різні позначення. Нормальний білок зазвичай означають як  $\text{PrP}^c$  ( $\text{PrP}$  = prion protein;  $c$  = cell), тоді як форму, що неправильно згорнулася, означають як  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  ( $\text{Sc}$  = scrapie) або як  $\text{PrP}^{\text{res}}$  ( $\text{res}$  = resistant to proteinase).

Механізм, за допомогою якого пріон «реплікується», є незрозумілим. Білок, що неправильно згорнувся, якимось чином викликає неправильне згортання нормальних білків клітини, але як саме це відбувається, залишається невідомим.

Припускають, що ініціація процесу реплікації пріона вимагає чогось на кшталт «зерна», яке являє собою агрегат декількох молекул неправильно згорнутого білка (Мал. 9.2).



**Мал. 9.2.** Модель реплікації пріонів. Копії нормального білка розгортаються (A) і знову згортаються у форму, яка представлена головним чином  $\beta$ -листами (показані стрілками). Реплікація може потребувати «зерна» критичного розміру. Приєднання до такого зерна неправильно згорнутих (C) або розгорнутих (D) молекул призводить до незворотності процесу (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Таке «зерно» може бути сформоване після зараження пріонами, або після дуже рідко спостережуваної конформаційної зміни нормальної молекули, або як результат експресії мутантного гена пріона.

Молекули білка, що неправильно згорнувся, накопичуються в ендосомах і лізосомах, що особливо виражено в нервових клітинах. За деяких пріонних захворювань такий білок виявляється також в інших органах і тканинах, включаючи селезінку і лімфатичні вузли.

Інфекційність пріонів зберігається під час нагрівання, вона в деякій мірі зберігається навіть після автоклавування впродовж тривалого часу. Окрім цього, пріони стійкі також по відношенню до багатьох інших типів обробок.

### 9.3. Захворювання, що викликаються пріонами

У одних випадках пов'язане з пріонами захворювання виникає спонтанно, в інших випадках успадковується, і інколи отримується внаслідок попадання інфекційного агенту в тіло. У випадку попадання пріонів в тіло, найчастіше вони потрапляють в шлунково-кишковий тракт, надалі через тонкий кишковик потрапляють в організм і транспортується в лімфоретікулярну систему (тобто селезінку, лімфатичні вузли), де молекули ампліфікуються. З цих ділянок вони можуть бути перенесені в центральну нервову систему.

Реплікація пріонів відбувається повільно, проте оскільки білки, що неправильно згорнулися, не руйнуються, їх концентрація поступово зростає. Молекули формують нерозчинні агрегати, накопичення яких призводить до порушення функцій і загибелі нервових клітин. Внаслідок цих подій утворюються порожнини і отвори в тканині мозку. Неминучим результатом є смерть хазяїна пріонів.

**Захворювання тварин.** Скрепі, що також зветься «вертячка», «почесуха», «трясучка», є відомою в Європі впродовж сотень років хворобою овець. Багато хворих тварини починали чухатися об тверді об'єкти, наприклад об стовпи загорож, звідки і сталася назва хвороби (англ. scarie, від scare – шкребти). Хворі тварини скрипіли зубами, спотикалися і падали, і врешті-решт помирали. У 1930-х рр. було показано, що скрепі може бути передана від вівці до вівці за допомогою введення тканини мозку.

У США в 1947 р. була вперше описана трансмісивна губчаста енцефалопатія у норок, що розводилися на фермі, згодом у кінці 1980-х років хронічна хвороба, що виснажує, була описана у чорнохвостих оленів і лосів, що утримувалися в неволі. Надалі це захворювання було виявлене у диких чорнохвостих оленів, білохвостих оленів і лосів; воно є єдиною формою ТГЭ у тварин, що живуть в дикій природі.

Губчаста енцефалопатія корів, або коров'ячий сказ, уперше було описано у Великобританії в 1986 р., і незабаром стався спалах цього захворювання. Хвороба поширювалася через використання для корму великої рогатої худоби м'ясо-

костного борошна. Це борошно виробляли з тіл хворих тварин. Зовні здорові корови могли фактично містити великі кількості молекул білка, що неправильно згорнулися, в головному і спинному мозку. Залишається невідомим, чи мав початковий інфекційний матеріал стосунок до овець, хворих скріпи, або він належав коровам, у яких захворювання виникло спонтанно.

Коров'ячий сказ був експортований з Великобританії в живих коровах, а також ймовірно в м'ясо-костному борошні, що експортується. Надалі про губчасту енцефалопатію корів повідомляли у багатьох країнах світу. У ранній період спалаху коров'ячого сказу про губчасту енцефалопатію повідомляли у багатьох домашніх тварин, що містяться в неволі, включаючи домашніх кішок, пум і тигрів, а також бізонів і антилоп. Ймовірно, ці випадки були результатом годування тварин м'ясом і м'ясо-костним борошном корів, хворих на коров'ячий сказ.

**Захворювання у людей.** У людей низка захворювань, що викликаються пріонами, підрозділяється на три категорії: спонтанні, спадкові і набуті. Приклади наведені у таблиці 9.1.

Спорадична хвороба Крейтцфельдта–Якоба є найбільш поширеною і трапляється з частотою близько 1,7 випадків на мільйон осіб на рік. Спадкові пріонні хвороби мають високу частоту виникнення в сім'ях, у яких геноми кодують певні амінокислоти в деяких кодонах гена *Prnp*.

Таблиця 9.1. Пріонні захворювання людини.

Категорія хвороби	Приклад
Спонтанні	Спорадична ХКЯ*
Спадкові	Сімейна форма ХКЯ Фатальне сімейне безсоння
Набуті	Куру Варіант ХКЯ

\*ХКЯ – Хвороба Крейтцфельда–Якоба (Creutzfeldt-Jakob disease).

Куру і набутий варіант ХКЯ набуваються через використання продуктів з пріонами в їжу. Куру – хвороба, що траплялась майже виключно у високогірних районах Нової Гвінеї у аборигенів племені форі, уперше була виявлена на початку ХХ століття. У 1950-х рр. Деніел Карлтон Гайдушек (Daniel Carleton Gajdusek) розкрив інфекційну природу куру. Живучи довгий час серед аборигенів племені і досліджуючи цю хворобу, він пов'язав появу захворювання з традицією канібалізму – поїдання мозку померлих. Він вважав, що куру викликається «латентним вірусом». Проте пізніше з'ясувалося, що інфекційний агент куру – пріон, тобто нормальний білок організму, що прийняв патогенні властивості через зміни конформації.

Варіант ХКЯ є відносно новою хворобою. Перший випадок цього захворювання стався у Великобританії в 1995 р., коли померла молода людина. Після цього трапилася низка випадків захворювання, у тому числі і за межами Великобританії. Не було ніяких доказів, що ці випадки обумовлені спадковою формою пріонного захворювання, також вони відрізнялися від спорадичної форми. Надалі було встановлено, що пріони, які викликають коров'ячий сказ, за молекулярними характеристиками відповідні пріонам, що викликають варіант ХКЯ. Було висловлено припущення, що це захворювання спостерігалось у людей, що використали в їжу м'ясо хворих корів, і пріон, що викликає губчасту енцефалопатію корів, є збудником варіанту ХКЯ. Декілька випадків цього захворювання, як вважають, було пов'язано не із вживанням м'яса, а з переливанням крові хворих людей здоровим.

**Штами пріонів і їх передавання.** Для деяких агентів, що викликають трансмісивні губчасті енцефалопатії, була диференційована низка штамів, кожен з яких мав фенотипічні особливості, що стійко передаються від покоління до покоління. Наприклад, різні штами агенту скрепі можуть індукувати різні клінічні синдроми у кіз. Відмінності також виявляються підчас лабораторних досліджень, в яких пріон можна диференціювати за такими властивостями, як інкубаційний період у мишей після введення в мозок і ступеня стійкості до нагрівання.

Штами вірусів розрізняються по послідовностях нуклеїнових кислот. Пріони не мають нуклеїнових кислот. Тому виникає питання, чим обумовлені відмінності між штамами пріонів? Одне з передбачуваних пояснень полягає в тому, що пріон може мати декілька варіантів неправильного згортання, і кожен з варіантів представляє штам пріона. Альтернативне пояснення полягає в тому, що штами пріонів можуть розрізнятися в ступені глікозилювання в двох сайтах глікозилювання, так що пріон може існувати в трьох формах: неглікозильованій, моноглікозильованій і діглікозильованій. Цукри в сайтах глікозилювання також можуть бути різними.

Пріони можуть бути перенесені в інших членів одного виду і часто інших видів. Ефективність перенесення залежить від входу, через який молекули пріонів потрапляють в тіло; ін'єкція в мозок набагато ефективніша, ніж поглинання з їжею. Також ефективність перенесення залежить від дози – чим вище доза пріона, тим більше вірогідне перенесення.

Іншим чинником, який впливає на ефективність перенесення пріонів, є існування невеликих варіацій в послідовності гена пріона, які призводять до варіації в сприйнятливості між генотипами. Присутність певних амінокислот в певних позиціях можуть зробити окремі особини більш або менш сприйнятливими. Наприклад, вівці сприйнятливіші до скрепі, якщо ген пріона кодує в положенні 136 валін, а не аланін. Невеликі варіації в послідовності гена пріона також чинять значну дію на інкубаційний період і клінічний перебіг захворювання.

Численні спроби передати агентів трансмісивної губчастої енцефалопатії віддалено спорідненим видам тварин показали, що це складне завдання. У тих випадках, коли передача вдавалася, мінімальна інфекційна доза була вища, а інкубаційний період довший, ніж протягом передачі пріона близьким видам. Це явище було назване «видовим бар'єром». Проте слід врахувати, що успішність передачі пріона оцінювали по прояву симптомів захворювання. Проте є докази, що в деяких випадках відбувалося безсимптомне зараження, і пріон реплікувався в організмі тварини до закінчення життя зараженої тварини. Інакше кажучи, тривалість життя зараженої тварини виявлялася менше, ніж того вимагав інкубаційний період хвороби. З цієї причини не виключено, що сила «міжвидового бар'єру» підчас передачі пріонів переоцінюється.

Якщо пріон переноситься в інший вид тварини і потім переноситься на особини цього ж виду, то з кожним пасажем інкубаційний період стає коротше, поки не стабілізується на певному рівні. Слід брати до уваги, що кожен вид тварин має свій специфічний білок-пріон, і за умови попадання в хазяїна іншого виду початковий пріон примушує неправильно згорнутися дещо інший по амінокислотній послідовності білок.

Перенесення інфекційного агенту коров'ячого сказу від корів людям у вигляді варіанту ХКЯ свідчить про подолання видового бар'єру. Про це ж свідчить захворювання домашніх кішок, а також інших видів тварин, які відбувалися під час спалаху коров'ячого сказу у Великобританії. В той же час випадків переходу інфекційного агенту, що викликає скріпи у овець, на людину зафіксовано не було. Таким чином, в якому ступені видовий бар'єр може захистити від перенесення пріонів між видами, залишається дискусійним питанням.

У природі пріонів і хвороб, що викликаються ними, залишається дуже багато неясного. Одна із причин, які стримують науковий прогрес в цій галузі – надзвичайно довгий інкубаційний період хвороби.

Після ознайомлення з цим розділом ви повинні:

- знати визначення термінів «пріон» і «трансмісивна губчаста енцефалопатія»
- розуміти механізм виникнення хвороби з участю пріонів
- знати головні пріонні хвороби тварин і людини
- знати механізм передавання пріонів
- обґрунтувати заходи, які зменшують ризик виникнення пріонних захворювань

#### **Додаткове читання до розділу 9.**

1. Григорьев В.Б. Прионные болезни человека и животных // Вопросы вирусологии. 2004. Т.49, №5. С. 4–12

2. Переседова А.В., Завалишин И.А. Болезнь Крейтцфельда-Якоба: современные аспекты проблемы (обзор литературы) // *Анналы клинич. и эксперимент. неврологии*. 2012. Т. 6, №1. С. 57–63.
3. Шкундина И.С., Тер-Аванесян М.Д.. Прионы // *Успехи биологич. химии*. 2006. Т. 46, №1. С. 3–42.
4. Caughey B., Baron G.S. Prions and their partners in crime // *Nature*. 2006. Vol. 19, N. 443 (7113). P. 803–810.
5. Priola S.A., Vorberg I. Molecular aspects of disease pathogenesis in the transmissible spongiform encephalopathies // *Mol. Biotechnol.* 2006. Vol. 33, N. 1. P. 71–88.
6. Soto C., Estrada L., Castilla J. Amyloids, prions and the inherent infectious nature of misfolded protein aggregates // *Trends Biochem. Sci.* 2006. Vol.31, N. 3. P. 150–155.



## Розділ 10. Походження та еволюція вірусів

### 10.1. Походження вірусів

Походження і еволюція багатьох клітинних організмів передбачаються на підставі вивчення викопних залишків. Проте стосовно вірусів, викопних залишків фактично немає. Через ці причини, питання походження вірусів є значною мірою умоглядним. Це ж стосується і еволюції вірусів, хоча останніми роками використання сучасних методів досліджень дозволяє будувати філогенетичні дерева і пропонувати раціональні пояснення механізмам еволюції вірусів принаймні у межах родини.

Віруси за визначенням є молекулярними паразитами клітини, тому до виникнення клітин віруси не могли з'явитися. Вважається, що перші викопні залишки, по яких встановлена наявність живих клітин, мають вік близько 4 млрд. років. Розумно припустити, що перші клітини з'явилися за декілька сотень мільйонів років до цього. Чимало біологів вважають, що до появи цих примітивних прокаріотів, була фаза еволюції, яка включала еволюцію органічних молекул. Цими молекулами, можливо, були білки і РНК, і деякі з РНК придбали здатність до самореплікації.

Археї і бактерії, що мешкають на земній кулі сьогодні, є прокаріотичними нащадками первинних клітин. Можливим, віруси з'явилися вже на ранній стадії еволюції цих примітивних прокаріотів, але в якій мірі віруси сучасних прокаріот нагадують ранні віруси древніх прокаріотів, залишається невідомим.

Еукаріотичні клітини з'явилися набагато пізніше, тому часова шкала вірусів, вражаючих еукаріотів, є набагато сучаснішою, ніж для вірусів прокаріотів.

У відповідь на питання, звідки сталися віруси, поки можна дати тільки одну певну відповідь: загалом, це залишається невідомим. На рівні припущень наводяться три можливі групи предків вірусів:

- молекулярні попередники клітинних організмів.
- компоненти клітин.
- внутрішньоклітинні мікроорганізми.

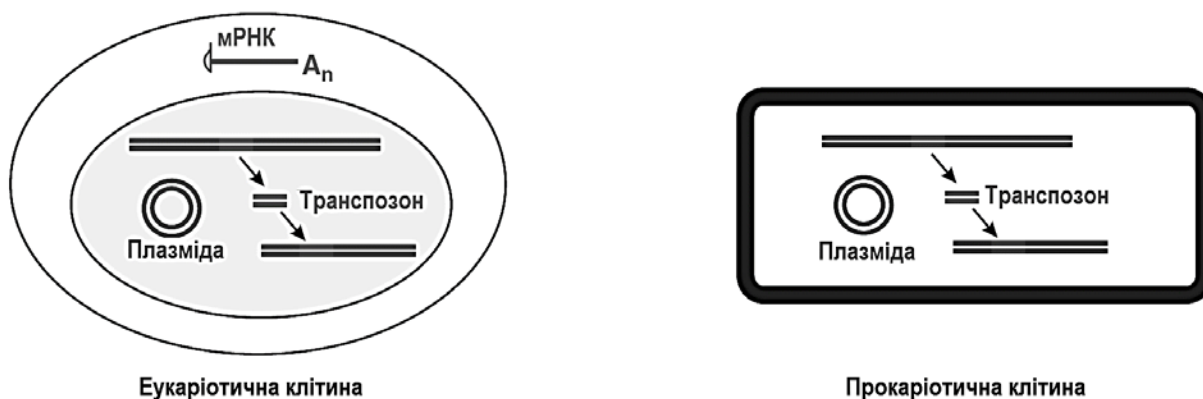
Відносно походження вірусів, відповідно є три основні гіпотези, кожна з яких пов'язана з одним з трьох потенційних предків вірусів.

**Молекулярні попередники клітинних організмів.** Вважається, що в ранній історії розвитку Землі, перед появою клітинних організмів, еволюціонували молекули РНК, у яких з'явилася ферментативна активність (рибозими) і здатність до самореплікації. Після появи перших живих клітин, в деяких з них могли паразитувати декотрі з цих молекул РНК. Якщо таке дійсно сталося, то аналогічні молекули РНК були першими вірусами. Деякі спеціалісти вбачають нащадків цього РНК-світу у віроїдах, геномі вірусу гепатиту дельта і малих замкнених в коло одноланцюгових сателітних РНК. Але інші спеціалісти вважають, віроїди і можливо інші згадані об'єкти мають походження від інтронів.

**Мобільні компоненти клітини.** Можливо деякі клітинні компоненти розвинули здатність реплікуватися самостійно, незалежно від контролю з боку клітини-хазяїна, і таким чином стали паразитами клітини. До цих потенційних кандидатів на попередників вірусів входять молекули мРНК, а також такі молекули ДНК, як плазміді і транспозони (Мал. 10.1).

Геноми багатьох (+)РНК-вірусів еукаріотів мають характеристики клітинних мРНК, наприклад кеп на 5'-кінці і послідовність полі(А) на 3'-кінці. Можливо, деякі РНК-віруси є нащадками клітинних мРНК?

Ковалентно замкнені в кільце молекули ДНК, відомі як плазміді, виявлені в клітинах прокаріотів та еукаріотів. Чи можуть деякі ДНК-віруси бути нащадками таких молекул? Декотрі бактерійні плазміді несуть гени, які специфікують утворення білкових трубок (пілей), які можуть прикріплюватися до іншої бактерії і дозволяють переходити плазмідам з однієї клітини в іншу. Чи можуть бактеріофаги, наприклад нитчасті фаги або фаги з хвостами, бути нащадками древніх плазмід і їх пілей? З іншого боку, передбачається, що пілі сучасних бактерій мають походження від нитчастих фагів!



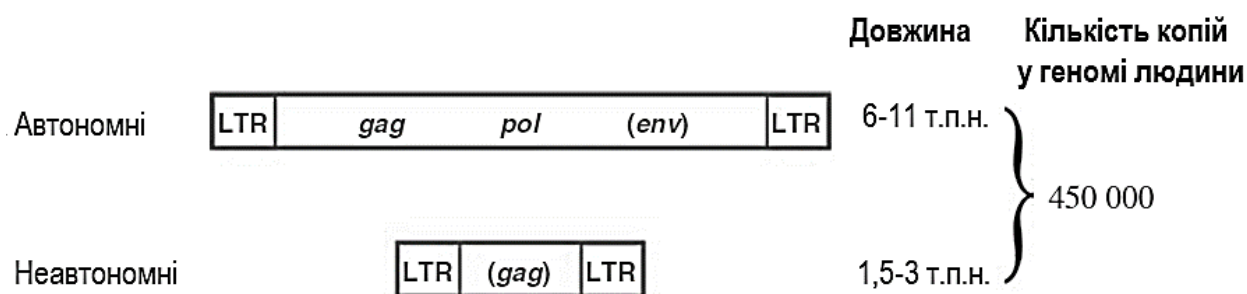
**Мал. 10.1.** Компоненти клітин, що є кандидатами в попередники вірусів (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Транспозони є мобільними послідовностями ДНК в геномах прокаріотів та еукаріотів. Вони названі мобільними тому, що можуть переміщатися з однієї ділянки генома в іншу за допомогою механізмів «вирізати і вставити» або «скопіювати і вставити». Можливо деякі ДНК-віруси є нащадками транспозонів.

Для того, щоб стати вірусами, ДНК транспозонів повинна була якимсь чином придбати низку генів, включаючи гени, що кодують білок або білки капсиду, а також у багатьох випадках гени полімераз для реплікації вірусних геномів.

Особливим класом клітинних компонентів, які належать до дуже вірогідних попередників вірусів, є ретротранспозони. Вони мають подібні ретровірусам послідовності в геномах еукаріотів. Ретротранспозони складаються з двох довгих термінальних повторів, які фланкують гени *gag*, *pol* і інколи *env* (Мал. 10.2). Таким чином, ретротранспозони нагадують провіруси ретровірусів. Вони реплікуються за допомогою транскрипції мРНК, яка потім транслюється у білки Gag і

Gag-Pol. Далі шляхом зворотної транскрипції утворюються нові копії транспозонів, які можуть вставитися в інші сайти клітинного генома. Ретротранспозони знайдені в геномах хребетних і безхребетних тварин, рослин і грибів.



**Мал. 10.2.** Подібні ретровірусам елементи в геномі людини. Автономні елементи (ретротранспозони) нагадують провіруси ретровірусів. LTR – довгі кінцеві повтори (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Є цілком вірогідним, що ретровіруси пішли від ретротранспозонів. Проте не менш вірогідним є те, що принаймні деякі ретротранспозони є нащадками ретровірусних провірусів, які інтегрувалися в геноми статевих клітин хазяїв. Тут ситуація до деякої міри нагадує ситуацію з яйцем і куркою.

Ретротранспозони називають автономними елементами, оскільки вони мають ген *pol*, який кодує зворотну транскриптазу і завдяки якому вони здатні реплікуватися. Проте геном людини також містить багато неавтономних елементів, які франковані довгими повторами, але мають послідовність тільки гена *gag*. Деякі з цих елементів можуть бути або залишками ретротранспозонів, або залишками ретровірусних провірусів.

Зрештою, геном людини містить близько 8 відсотків послідовностей, які називають ендегенними ретровірусами.

Інші віруси, що використовують стратегію зворотної транскрипції, наприклад гепатнавіруси, можуть мати походження, аналогічне ретровірусам.

Нарешті, можливими попередниками віроїдів можуть бути інтрони, ділянки ДНК, яка вирізується з мРНК в результаті сплайсингу, що не кодують ніяких білків.

**Внутрішньоклітинні мікроорганізми.** Як відомо, мітохондрії і хлоропласти еукаріотів мають походження від прокаріотичних клітин, які пристосувалися до нового стилю життя усередині клітини-хазяїна. Припускають, що предки цих органел пристосувалися до паразитичного або взаємовигідного способу внутрішньоклітинного існування, і з часом усе більш ставали залежними від своїх хазяїв, втративши здатність виконувати чимало функцій і втративши гени, які кодуюли ці функції.

Можливо, подібний еволюційний процес продовжився далі, що призвело до ще більшої дегенерації мікроорганізму і втрати таких функцій, як здатність до

синтезу білка, і зрештою цей мікроорганізм міг перестати бути клітиною або оргanelloю, а став вірусом.

Вірусами, які могли з'явитися таким шляхом, є мімівіруси і мегавіруси, які мають великий геном, що кодує багато білків, включаючи ферменти для синтезу полісахаридів і білки, що беруть участь в трансляції. Геноми цих вірусів також кодують шість тРНК.

Досить довгий час вважали, що така глибока дегенерація мікроорганізмів, яка могла б привести до повної втрати клітинної будови, неможлива. Проте відкриття мімі- і мегавірусів вдихнуло життя в цю гіпотезу.

**Звідкіля все ж таки віруси трапилися.** Поки відповіді на це питання немає. Значна різноманітність структур віріонів вірусів, типів геномів вірусів і стратегій їх реплікації вказує, що різні віруси мають різне походження. Наприклад, невеликі віруси з простою структурою могли походити від молекулярних попередників, тоді як дуже складні віруси, на кшталт мімівірусів та мегавірусів, можуть походити від попередників, що мали клітинну будову.

Проте є одна особливість вірусів, яка є універсальною – це ікосаедрична симетрія. Віруси з ікосаедричною симетрією мають різноманітні варіанти генома і вражають самих різних хазяїв. Проте ця спільність є вірогідним проявом конвергенції – ікосаедрична форма, разом із спіральною, з'явилася у вірусів, що мають різне походження, як економна в сенсі генетичної інформації і стабільна структура.

Слід мати на увазі, що, якого б походження віруси не мали, немає ніяких причин вважати, що їх утворення припинилося. Цілком імовірно, що сьогодні нові віруси продовжують виникати з молекулярних і клітинних попередників.

## 10.2. Еволюція вірусів

Концепція Чарльза Дарвіна щодо ролі надрепродукції і виживання найбільш пристосованих у процесі видоутворення може бути застосована не лише до живих організмів, але й до вірусів. Віруси також мають гени, які прагнуть себе «увічнити». Експресія комбінації генів, що становлять геном вірусу, робить можливою реплікацію вірусів. Зміни в окремих генах і їх комбінаціях породжують нові генотипи, більшість з яких менш успішні, ніж батьківські генотипи, і не виживають. Проте в окремих випадках нові генотипи випадково виявляються успішнішими у порівнянні з батьківськими генотипами, і можуть навіть витіснити батьківські генотипи. Іноді нові генотипи дозволяють вірусу заражати нового хазяїна.

Еволюцію живих організмів ми можемо досліджувати по викопних залишках. На жаль, «викопні залишки вірусів» не зберігаються. До теперішнього часу вдалося вивчити геноми тільки двох РНК-вмісних вірусів – вірусу грипу А, який

викликав пандемію в 1918-19 рр. і вірусу мозаїки томатів. Цей вірус є дуже стійким і його можна виявити в атмосфері. У недавній час РНК 15 штамів цього вірусу було виявлено в льодовиках Арктики, що мають вік від 500 до 140000 років.

**Механізми еволюції вірусів.** У багатьох стосунках механізми еволюції вірусів є аналогічними механізмам, які визначають еволюцію живих організмів. Ці механізми включають генерацію нових варіантів генома, які піддаються дії природного добору. Значна більшість нових варіантів не виживає, проте деякі можуть забезпечити селективну перевагу в конкретній ніші. У вірусів такою нішею може бути новий вид хазяїна або присутність в організмі хазяїна антивірусних ліків. У такій ніші новий варіант вірусу може успішно реплікуватися як новий штам вірусу. Нові варіанти геномів вірусів можуть виникати в результаті мутацій, пересортовування генів або захоплення генів клітини.

**Мутації.** Під час копіювання геномів вірусів полімеразою відбуваються деякі помилки. Якщо ці помилки відбуваються в послідовності, що кодує білок, і якщо помилка призводить до заміни амінокислоти у білці, то помилка призводить до мутації. Природний добір зберігає ті мутації, які забезпечують вірусу кращу пристосованість.

Відомо чимало видів тиску природного добору на віруси. Один з таких видів включає імунну відповідь хазяїна; наприклад, новий варіант антигена вірусу тварини, з якою імунна система хазяїна раніше не траплялася, матиме перевагу у порівнянні з типом антигена, проти якого у хазяїна є набута стійкість. Таким чином, є сильний тиск добору на вірусні білки, які є мішенями імунної відповіді хазяїна, наприклад на білок gp120 ВІЛ-1. Такі білки вірусу часто є найменш консервативними, найбільш варіабельною є ділянка білка, що є мішенню для антитіла (епітоп). У еволюційного процесу, проте, є обмеження. Білки прикріплення вірусу повинні зберігати конфігурацію, яка дозволяє їм зв'язуватися з рецептором, а ферменти, типу зворотної транскриптази, повинні зберігати свої каталітичні властивості. Для деяких вірусів є додаткові обмеження. Наприклад, такі віруси як вірус жовтої карликовості картоплі, які повинні реплікуватися як в рослині-хазяїнові, так і в комасі-хазяїнові, можуть зазнавати тільки такі мутації, які підвищують їх здатність до реплікації в одному хазяїнові і як мінімум не знижують їх здатність реплікуватися в іншому хазяїнові.

Під час реплікації ДНК-геномів вірусів кількість помилок набагато менша, ніж протягом реплікації РНК-геномів. Це пов'язано з тим, що ДНК-залежна ДНК-полімераза має механізм виправлення помилок спаровування компліментарних основ, тоді як РНК-полімераза і зворотна транскриптаза такого механізму не мають. Внаслідок цього ДНК-вмісні віруси еволюціонують набагато повільніше, ніж РНК-вмісні віруси.

Значна кількість помилок під час реплікації РНК і зворотної транскрипції означає, що РНК-вмісні віруси не мають якоїсь фіксованої послідовності основ в геномі. Замість цього, вірусні геноми представлені великою кількістю варіантів;

для опису групи варіантів, які в сукупності представляють геном РНК-вмісного вірусу, запропонований термін «квазівид». У багатьох варіантів спостерігається тільки швидкоплинне існування, тоді як найкраще пристосовані до конкретної ніші починають в цій ніші домінувати.

Першим кроком в реплікації геномів ВІЛ є зворотна транскрипція, протягом якої відбувається приблизно одна помилка на  $10^4$  доданих нуклеотидів. Оскільки геном ВІЛ містить близько  $10^4$  основ, це означає, що в середньому відбувається одна помилка під час зворотної транскрипції одного генома. Доведено, що віруси імунodefіциту людини перейшли на людей з шимпанзе і мавп родини церкопітекових. Після переходу на новий вид, віруси швидко еволюціонували на багато субтипів і суб-субтипів.

Швидку еволюцію ВІЛ можна спостерігати в тілі зараженої людини, в якій щодня продукується від  $10^{10}$  до  $10^{12}$  нових віріонів. Таким чином, відбувається постійне створення величезної кількості нових генетичних варіантів вірусу. Завдяки цьому, вірус швидко еволюціонує у відповідь на тиск добору, наприклад на присутність антивірусних ліків.

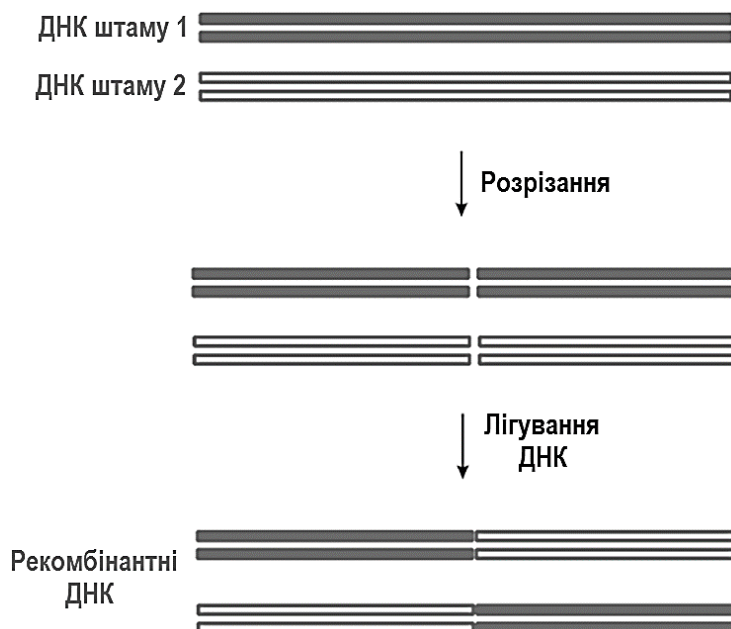
Висока різноманітність також виявлена в геномах інших РНК-вірусів, таких як вірус гепатиту С, у якого ізоляти, виділені у одного пацієнта, мають до п'яти відсотків відмінностей в послідовності нуклеотидів.

Здатність до швидкої еволюції РНК-вірусів створює практичні проблеми в розвитку і підтримці деяких програм по вакцинації. Так, за умови вакцинації послабленим вірусом поліомієліту вакцина, представлена одним або більше штамами, вводиться в кишковик, і інфекція в нормі залишається в тілі 1–2 місяці. Проте у деяких вакцинованих людей з імунodefіцитом інфекція залишається набагато довше, і впродовж цього часу вірус завжди еволюціонує. Оскільки між штамами вірусу поліомієліту, вірулентними для нервових клітин, і штамами вакцини є відмінність тільки в декількох нуклеотидах, реверсія до нейровірулентного типу є загальним явищем, і у таких людей може розвинути паралітичний поліомієліт; також вони стають джерелом інфекції вірусу паралітичного поліомієліту для оточення.

Вірус гепатиту В є ДНК-вмісним вірусом, проте оскільки реплікація його генома включає зворотну транскрипцію, частота помилок під час реплікації є такою ж високою, як і у РНК-вмісних вірусів. Хоча геном цього вірусу складний і чимало мутацій не дозволяють вірусу реплікуватися, варіабельність генома цього вірусу набагато вища, ніж у ДНК-вмісних вірусів, геном яких реплікується тільки з використанням ДНК-залежної ДНК-полімерази.

**Рекомбінація** є процесом, результатом якого є утворення нового генома, що походить від двох батьківських геномів. У вірусів рекомбінація може відбуватися, коли клітина заражена двома спорідненими вірусами. Рекомбінація може

відбуватися у ДНК- і у РНК-вмісних вірусів. Протягом рекомбінації ДНК-вмісних вірусів відбувається розрізання батьківської ДНК з подальшим зшиванням рекомбінантів (Мал. 10.3).



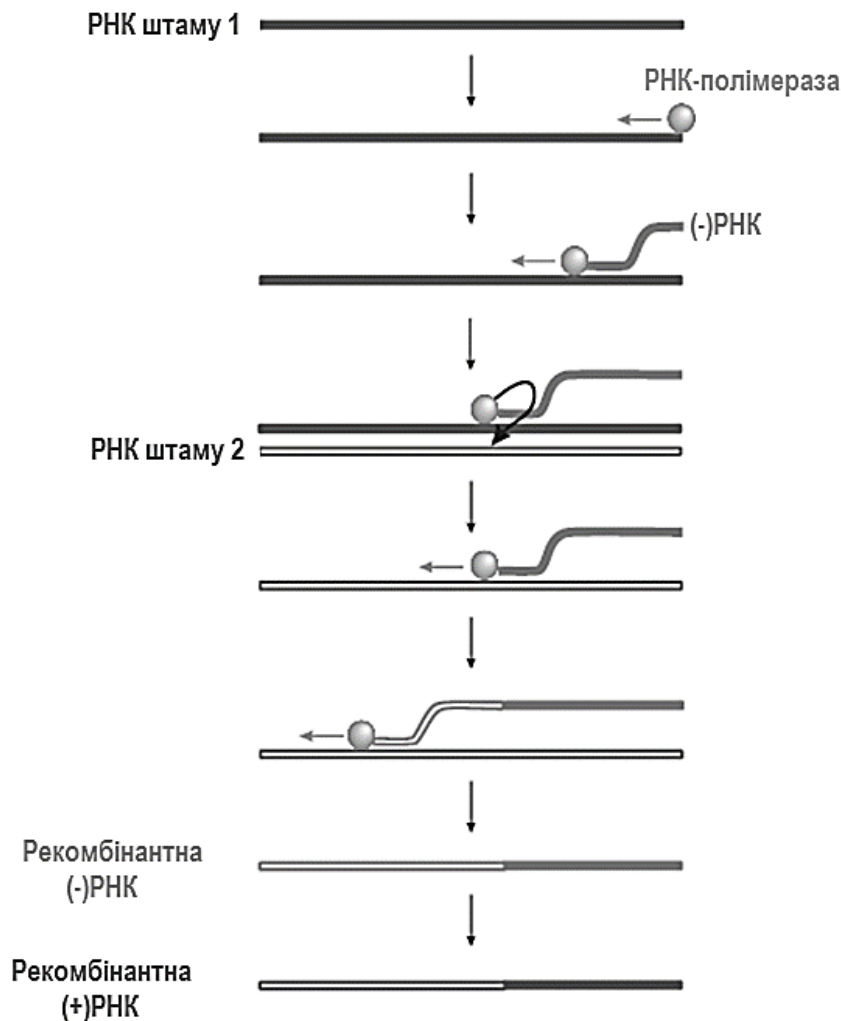
*Мал. 10.3. Рекомбінація між ДНК двох штамів вірусу (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).*

Геноми РНК-вмісних вірусів можуть здійснювати рекомбінацію аналогічним чином.

Для вірусів, що містять одноланцюгову РНК, вважають, що рекомбінація може відбуватися за допомогою механізму перемикання матриці. Підчас його РНК полімераза транскрибує одну молекулу РНК, далі вона переміщається на іншу молекулу РНК і продовжує синтез з використанням нової матриці (Мал. 10.4).

Рекомбінація також є звичайною подією у ретровірусів і гепаднавірусів (параретровірусів). Ймовірно вона відбувається в процесі зворотної транскрипції за допомогою механізму перемикання матриці. У ретровірусів матриці РНК знаходяться у віріоні, і РНК різних штамів можуть опинитися в одному віріоні за умови спільного зараження клітини двома штамми вірусу і подальшій зборці віріонів. У параретровірусів матриці РНК різних штамів знаходяться в цитоплазмі клітини.

Рекомбінації у вірусів постійно відбуваються в природі; їх також індукують в лабораторії наприклад для отримання штамів вірусних векторів, що несуть потрібні гени.



**Мал. 10.4.** Рекомбінація одноланцюгової геномної РНК вірусів за допомогою механізму перемикання матриці (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

**Пересортовування генів.** Пересортовування генів є видом рекомбінації, який відбувається у вірусів з сегментованими геномами. Якщо клітина виявиться зараженою двома штамами такого вірусу, то віріони потомства можуть містити суміш сегментом геномів двох батьківських штамів. Такі віріони називають реасортантами.

Реасортанти особливо притаманні вірусу грипу А, геном якого складається з 8 сегментів (–)РНК. Один з сегментів кодує гемаглютинін оболонки вірусу (Н), ще один сегмент кодує нейрамінідазу N. Пересортовування забезпечує появу штамів вірусів з новими комбінаціями варіантів Н і N. Впродовж XX сторіччя у світі сталися три великі пандемії, викликані реасортантами вірусу грипу А (Табл. 10.1).

Найбільш спустошливою була пандемія 1918–19 років, коли кількість людей, убитих вірусом, виявилася більшою за кількість загиблих на Першій світовій війні. З використанням легеневиx тканин померлих, фіксованих у формаліні і уміщених в парафін, а також занурених у вічну мерзлоту на Алясці, було встановлено, що вірус, який викликав пандемію 1918 року, належав до типу H1N1.



Проте його геном відрізняється від генома будь-якого вірусу грипу, відомого сьогодні, і походження цього вірусу залишається невідомим. Невідомою також залишається причина, з якої зараження людей цим вірусом призвело до великої летальності серед хворих.

Таблиця 10.1. Пандемії ХХ сторіччя, викликані реасортантами вірусу грипу А.

Рік	Реасортант вірусу грипу А	Батьківські віруси
1918	H1N1	Невідомі
1957	H2N2	H1N1 людини, H2N2 птиць
1968	H3N2	H2N3 людини, H3 птиць

Походження вірусів, відповідальних за дві пізніші пандемії грипу, було встановлене. У кожному випадку віруси були реасортантами між вірусами грипу людей і птахів.

**Захоплення генів клітини.** Відкриття схожості між деякими білками вірусів і білками клітини привело до висновку, що деякі віруси захопили гени клітини. Геноми низки ретровірусів містять онкогени, які вони ймовірно придбали у клітин своїх хазяїв, які мають схожі гени (протоонкогени). Прикладом є ген *src* вірусу саркоми Рауса, дуже схожий з геном *c-src*, який мають клітини усіх хребтних тварин.

Ретровіруси можуть придбати онкогени за допомогою рекомбінації між провірусною ДНК і ДНК хазяїна, або протягом синтезу РНК вірусу, якщо транскрипція не закінчується на провірусній ДНК і триває на протоонкогені, що знаходиться в хромосомі поряд з провірусною ДНК.

Білки, подібні до білків клітини-хазяїна, мають не лише ретровіруси. Деякі білки вірусів модулюють імунну систему хазяїна, часто імітуючи білки клітини. Наприклад, деякі герпесвіруси людини кодують білки, подібні до цитокінів і білків головного комплексу гістосумісності. Деякі великі ДНК-вмісні віруси кодують білки, подібні до інтерлейкіну-10, і деякі з цих білків пригнічують клітинну імунну відповідь. Чи мають гени вірусів, які кодують такі білки, походження від генів клітини, і якщо так, яким чином віруси можуть їх придбати?

Одним з можливих механізмів є рекомбінація. Проте для її здійснення ДНК вірусу, що реплікується, і ДНК клітини повинні опинитися у безпосередній близькості. Це цілком можливо для ДНК-вмісних вірусів, реплікація яких здійснюється в ядрі (наприклад, у герпесвірусів). Проте є ДНК-вмісні віруси, геном яких в ядро не проникає, наприклад у вірусу віспи. У таких вірусів геноми не опиняються у безпосередній близькості від ДНК хазяїна.

Ще однією можливістю для вірусу придбати гени клітини є синтез ДНК на клітинних мРНК, з подальшою вставкою цієї ДНК в геном вірусу. Синтез ДНК на РНК-матриці вимагає наявності зворотної транскриптази, тому така можли-

вість може бути реалізована тільки за умови спільного зараження клітини вірусом і ретровірусом, або за наявності в геномі хазяїна ДНК (яка, наприклад, має ретровірусне походження), що кодує зворотну транскриптазу.

**Поява нових вірусів.** Час від часу з'являються нові віруси, і їх походження оточене таємницею. Проте секвенування геномів нових вірусів і деяких відомих вірусів показує, що нові віруси зазвичай є вже існуючими вірусами, що заражають нових хазяїв, в яких відбувається подальша еволюція цих вірусів. У багатьох випадках зараження нового хазяїна є глухим кутом, оскільки не відбувається передачі вірусів новим особинам. Проте іноді вірус адаптується і придбаває здатність передаватися від одного хазяїна іншому. Таким чином, потрапляючи в новий вид хазяїна, вірус повинен придбати ряд нових здібностей, зокрема реплікуватися в новому хазяїнові, уникати імунної відповіді нового хазяїна і передаватися іншим особинам нового хазяїна.

У 1978 р. новий парвовірус з'явився у собак і швидко поширився по всьому світу. Послідовність генома цього парвовірусу виявилася більш ніж на 99% ідентичною парвовірусу кішок (вірусу панлейкопенії, або інфекційного гастроентериту). Обидва віруси можуть заражати клітини кішок, але тільки вірус собак може заражати клітини собак. Вважають, що вірус кішок був предком вірусу собак.

Так само послідовності геномів ВІЛ-1 і ВІЛ-2 дуже подібні послідовності вірусу імунодефіциту мавп, знайденого у шимпанзе і темно-коричневих мангабеїв (примати родини церкопитеків) відповідно. Як вважають, обидва віруси здолали міжвидовий бар'єр підчас контактів людей з м'ясом і кров'ю мавп.

**Коеволюція вірусів та їхніх хазяїв.** Асоціації вірус-хазяїн, які існують впродовж тривалого часу, ймовірно розвиваються у бік таких взаємовідносин, за яких вірус завдає слабку шкоду хазяїнові, або не шкодить взагалі. Прикладами таких вірусів є депендовіруси і деякі реовіруси, які не асоційовані ні з яким захворюванням. Ймовірно, члени цих груп вірусів, які заражають *Homo sapiens*, є супутниками людей з моменту виділення людини в окремий вид.

Коли вірус починає заражати нового хазяїна, він часто стає набагато більше вірулентним для нового хазяїна, ніж був для старого. Прикладами є вірус імунодефіциту шимпанзе і вірус імунодефіциту темно-коричневих мангабеїв, які є авірулентними для своїх хазяїв, але підчас переходу на людину і перетворенні у ВІЛ-1 і ВІЛ-2 вони виявилися летальними для нового хазяїна.

Вірулентний вірус може впливати на еволюцію свого хазяїна, спричиняючи зникнення генів, які обумовлюють сприйнятливість до вірусної інфекції, поки добір сприятиме генам стійкості. ВІЛ-1 нині чинить тиск відбору на користь делеції розміром 35 нуклеотидів в гені CCR5, який підтримує сприйнятливість до зараження.

Хорошим прикладом коєволюції вірусу і хазяїна є взаємовідносини вірусу міксоми і європейського кролика. У природних хазяїв вірусу, видів кроликів з Південної Америки, зараження вірусом викликає розвиток пухлин шкіри, які з часом проходять. В протилежність цьому, коли вірус міксоми заражає особини європейського кролика, він викликає міксоматоз, для якого характерні гострий кон'юнктивіт, здуття на шкірі і втрата апетиту. Захворювання майже завжди виявляється фатальним, і з цієї причини вірус був інтродукований в Австралію як агент біологічного контролю здичавілих кроликів. Після декількох років інтродукції були отримані докази еволюції вірусу. З'явилися штами вірусу міксоми з ослабленою вірулентністю, які ймовірно передаються ефективніше. Окрім цього, у кроликів почали спостерігатися випадки стійкості до вірусу. Таким чином, вірус і його новий хазяїн зазнають коєволюцію.

Завершення коєволюції вірусу і його хазяїна, ймовірно, відбувається тоді, коли геном вірусу вбудовується в геном хазяїна. Вірогідно, це сталося, коли принаймні деякі послідовності ендегенних ретровірусів/ретротранспозонів з'явилися в геномах еукаріотів.

Геноми прокаріотів також містять послідовності, які є результатом інтеграції вірусних геномів в процесі лізогенії. Послідовності фагів (профаги) виявлені у більшості геномів бактерій, які були секвеновані. Деякі з цих профагів здатні до індукції, тобто можуть активуватися, вірус починає реплікацію і клітина хазяїна лізується. Інші профаги є дефектними, і їх реплікацію індукувати не можна. Гени, пов'язані з низкою особливостей бактерій, кодуються послідовностями профагів, наприклад синтез холерного токсину у *Vibrio cholera*.

Після ознайомлення з цим розділом ви повинні:

- знати головні теорії походження вірусів
- пояснити, як відбувається еволюція вірусів через мутації, рекомбінації та пересортування генів
- розуміти напрямки коєволюції вірусів і їх господарів

### Додаткове читання до розділу 10

7. Каверин Н.В., Смирнов Ю.А. Межвидовая трансмиссия вирусов гриппа а и проблема пандемий // Вопросы вирусологии. 2003. Т. 48, №3. С. 4–10.
8. Bamford D.H., Grimes J.M., Stuart D.I. What does structure tell us about virus evolution? // Curr. Opin. Struct. Biol. 2005. Vol.15, N. 6. P. 655–663.
9. Forterre P. The origin of viruses and their possible roles in major evolutionary transitions // Virus Res. 2006. Vol.117, N. 1. P. 5–16.
10. Forterre P., Prangishvili D. The origin of viruses // Res. Microbiol. 2009. Vol. 160, N. 7. P. 466–472.
11. Holland J., Domingo E. Origin and evolution of viruses // Virus Genes. 1998.

- Vol. 16, N. 1. P. 13–21.
12. Koonin E.V., Senkevich T.G., Dolja Vol.Vol. The ancient Virus World and evolution of cells // Biol. Direct. 2006. P. 1–29.
  13. Nasir A., Kim K.M., Caetano-Anollés G. Viral evolution: Primordial cellular origins and late adaptation to parasitism // Mob. Genet.Elements. 2012. Vol. 2, N. 5. P. 247–252.
  14. Roossinck M.J. Mechanisms of plant virus evolution // Annu. Rev. Phytopathol. 1997. Vol.35. P. 191–209.
  15. Roossinck M.J. Symbiosis versus competition in plant virus evolution // Nat. Rev Microbiol. 2005. Vol. 3, N. 12. P. 917–924.
  16. Xiong Y., Eickbush T.H. Origin and evolution of retroelements based upon their reverse transcriptase sequences // EMBO J. 1990. Vol. 9, N. 10. P. 3353–3362.

## Розділ 11. Головні методи досліджень та ідентифікації вірусів

### 11.1. Культивування вірусів

Вірусологам потрібні методи культивування їх об'єктів досліджень. У переважній більшості випадків це означає, що віруси необхідно забезпечити відповідними клітинами, які вони можуть заразити і в яких може проходити їх реплікація. Бактеріофаги можна забезпечити клітинами бактерійної культури, віруси рослин можна культивувати в спеціально вирощуваних рослинах або в рослинних протопластах. Ймовірно, найскладніше культивувати віруси тварин.

**Культивування вірусів в лабораторних тваринах.** Аж до середини 30-х років 20 сторіччя експериментальні зараження тварин або рослин і ультрафільтрація були головними методами ідентифікації вірусів. Ці методи дозволили виділити чимало вірусів домашніх тварин, деякі віруси комах і рослин. Проте стандартні лабораторні тварини – миші, щури, морські свинки, кролики – несприйнятливі до більшості вірусних інфекцій людини.

До середини 30-х років за допомогою лабораторних тварин були відкриті збудники грипу і герпесу. До вірусу грипу дуже чутливими виявилися тхори. Використання мавп як лабораторних тварин дозволило відкрити віруси віспи, поліомієліту, жовтої лихоманки, Денге.

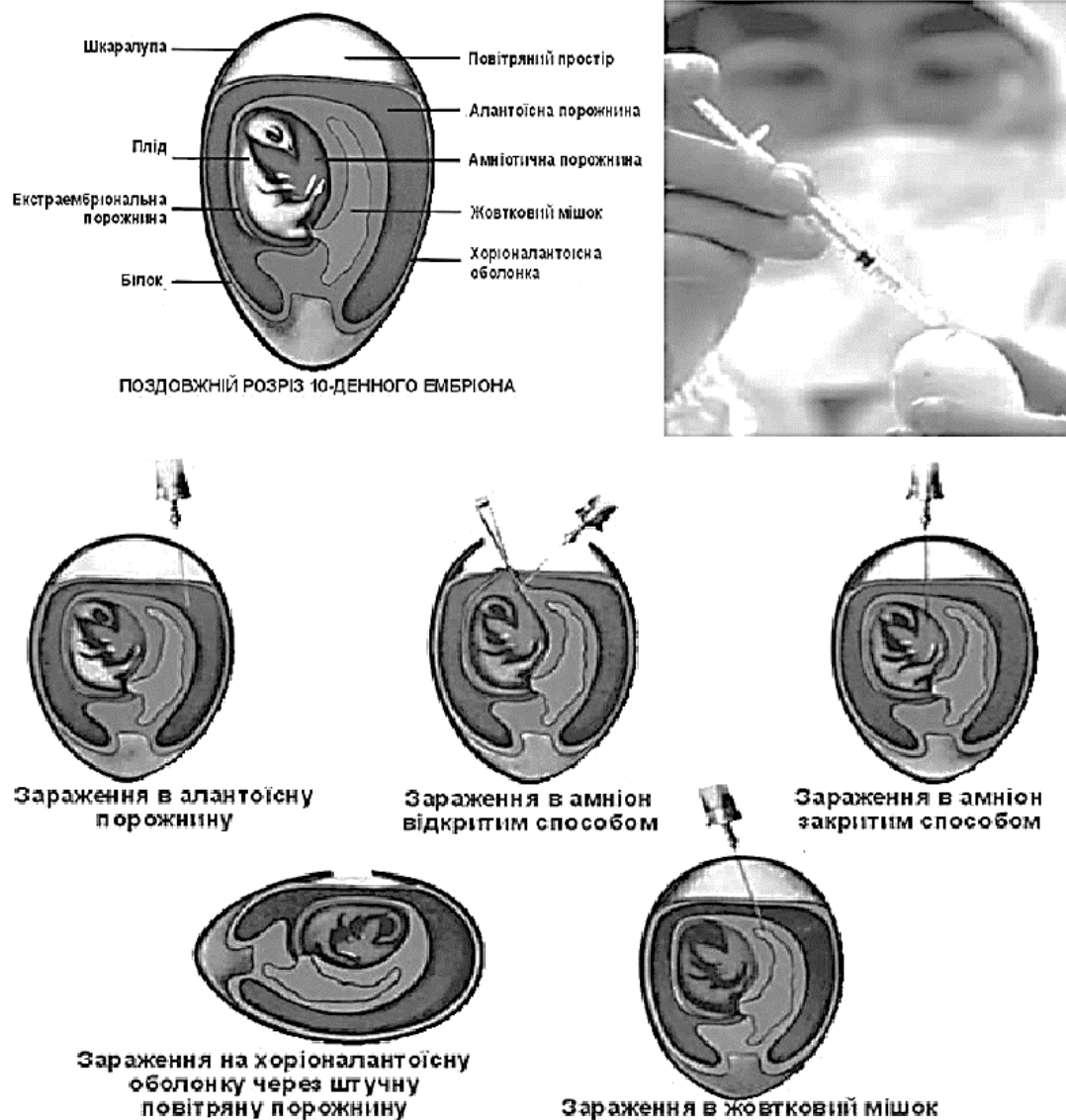
Вибір експериментальних тварин визначається метою роботи і видовою чутливістю до вірусу, що вивчається. Лабораторних тварин заражають різними способами залежно від тропізму вірусу до певних тканин. Так, наприклад, для культивування нейротропних вірусів зараження роблять переважно в мозок (віруси сказу, кліщового енцефаліту та ін.), культивування респіраторних вірусів здійснюється шляхом інтраназального інфікування тварин (віруси грипу), дерматотропних (вірус віспи) – шляхом нашкірного і внутрішньошкірного зараження. Під час роботи з тваринами найчастіше використовуються нашкірне, внутрішньошкірне, внутрішньом'язове, внутрішньоочеревинне і внутрішньомозкове зараження.

При первинному зараженні тварини можуть не захворіти, тому через 5–7 діб зовні здорових тварин вбивають, а з їх органів готують суспензії, якими заражають наступні партії тварин. Ці послідовні зараження називаються «пасажами».

Індикацію, тобто виявлення факту розмноження вірусу, встановлюють на підставі розвитку типових ознак захворювання, патоморфологічних змін органів і тканин тварин або іншими способами, наприклад по позитивній реакції гемаглютинації (РГА). РГА заснована на здатності деяких вірусів викликати аглютинацію (склеювання) еритроцитів різних видів тварин, птахів і людини за рахунок поверхневого вірусного білка – гемаглютиніну. Нині використання тваринних для культивування вірусів обмежене.

Окрім очевидних проблем, пов'язаних у тому числі з питаннями біоетики, культивування вірусів в тваринах має ще одні недолік. За умови зараження експериментальних тварин, чутливих до того або іншого вірусу, цей останній накопичується у внутрішніх органах або нервовій тканині, звідки його важко виділити в чистому вигляді, звільнивши від клітинних білків.

**Культивування вірусів в курячих ембріонах.** В середині 1930-х років австралійський вірусолог Ф. Барнет (F. Burnet) почав використати новий для вірусології експериментальний об'єкт – курячі ембріони (Мал. 11.1).



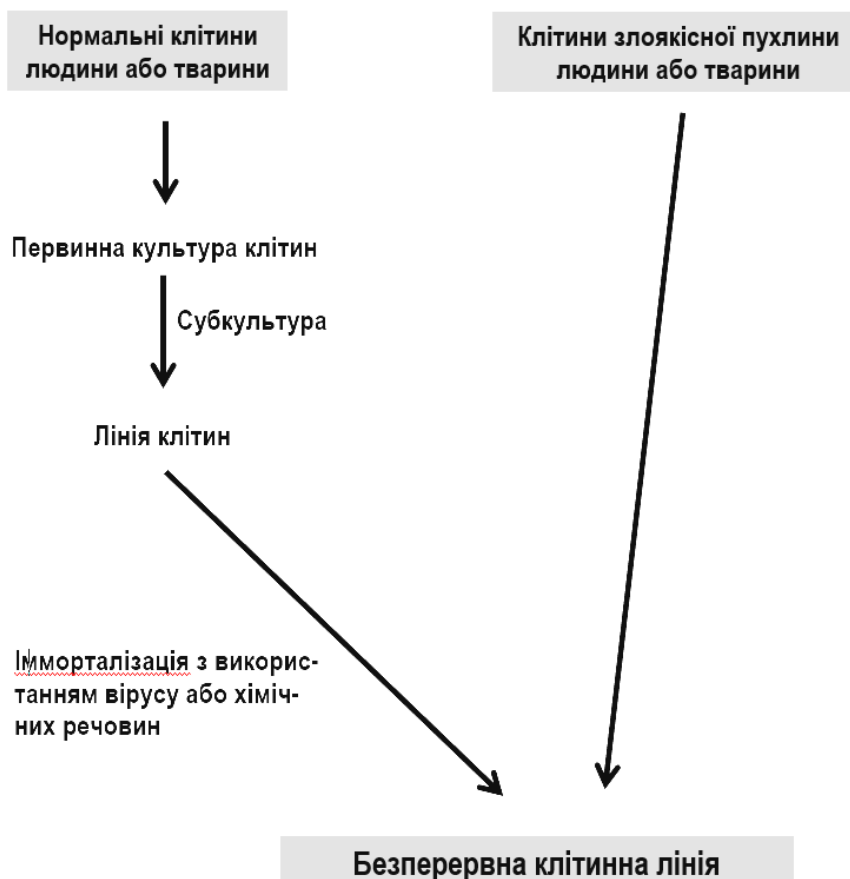
*Мал. 11.1. Способи зараження курячих ембріонів.*

Курячі ембріони є практично ідеальними моделями для культивування вірусів. Замкнена порожнина ембріона перешкоджає проникненню до нього мікроорганізмів та розвитку спонтанних вірусних інфекцій. Ембріони застосовують для первинного виділення вірусів з патологічного матеріалу; для пасивування і збереження їх, а також для отримання необхідних кількостей вірусу.

Для зараження вірусами зазвичай використовують 10-12-денні курячі зародки, у яких в цей час добре розвинені оболонки – хоріон-алантоїсна і амніотична. Коли їх заражають вірусами, може розвинути вірусна інфекція. Розмноження вірусу відбувається впродовж 3–4 діб, коли імунітет ще не устигає розвинути. Розмноження вірусу в курячих ембріонах відбувається в різних частинах зародка, що пов'язано з особливостями тропізму вірусу. Розмножуючись в зародкових оболонках, вірус виділяється в алантоїсну і амніотичну рідину, де накопичується у величезних кількостях (до декількох мільярдів віріонів в 1 мл). Надалі вірус може бути осаджений в центрифугі і додатково очищений різними методами.

Методику вирощування вірусу в курячому ембріоні широко використовують під час промислового культивування. Окрім курячих ембріонів, в деяких випадках використовуються ембріони інших птахів – качок, перепелиць тощо.

**Культивування вірусів в культурі тканин і клітин.** Методи культивування тканин і клітин тварин були розроблені до середини минулого століття. Нині більшість клітин для безперервних культур мають походження від людей або інших видів тварин. Безперервна культура клітин складається з клітин, які стали безсмертними або в тілі, або в лабораторії (Мал. 13); такі клітини можна культивувати необмежено.



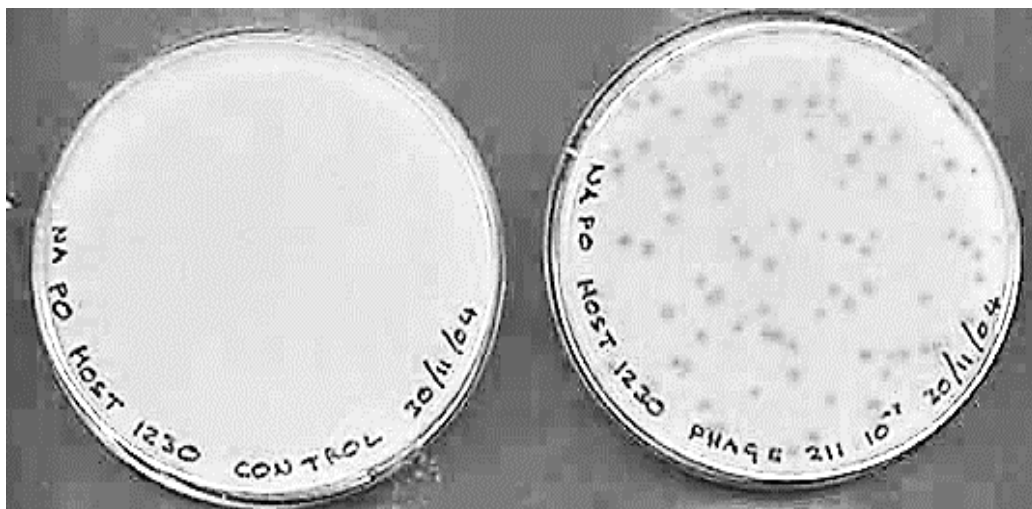
*Мал. 11.2. Походження безперервних ліній клітин.*

Дуже поширеною є клітинна лінія HeLa. Вона була отримана 8 лютого 1951 р. з ракової пухлини шийки матки пацієнтки на ім'я Генрієта Лакс (англ. Henrietta Lacks), що померла від цього захворювання 4 жовтня того ж року. Іноді важко знайти лінію клітин, в якій вірус може реплікуватися. Так, довго не вдавалося підібрати відповідну клітинну культуру для вірусу гепатиту С, проте зрештою була знайдена лінія клітин гепатоми людини, яка підтримувала реплікацію вірусу.

Клітини культивують в середовищах, в які додають поживні елементи. Більшість середовищ містять сироватку крові тварин, в якій є речовини, які підтримують ріст багатьох ліній клітин. Велике значення мають також осмотичний тиск і рН середовища. Більшість клітин вирощують в пластикових або скляних судинах у вигляді єдиного шару клітин, що називається моношаром. Альтернативно клітини можна культивувати у вигляді суспензії в струшуваному рідкому середовищі. Чимало типів клітин вимагають відносно високої концентрації двоокису вуглецю, який забезпечують в спеціальних інкубаторах.

## 11.2. Виділення вірусів

Чимало вірусів виділяють з використанням їх здатності викликати утворення дискретних видимих зон, так званих бляшок, в шарі клітин хазяїна (або на листках рослин). Якщо зімкнутий шар клітин інокулювати вірусом в концентрації, за якої заражається тільки невелика частина клітин хазяїна, бляшки можуть формуватися як ділянка клітин, убитих або пошкоджених вірусною інфекцією. Кожна бляшка формується, коли інфекція радіально поширюється від зараженої клітини в навколишні клітини. Бляшки формують багато вірусів тварин, коли моношар клітин заливається агарозним гелем для збереження вірусного потомства в дискретній зоні. Бляшки також формують бактеріофаги на газоні культури бактерій (Мал. 11.3).



**Мал. 11.3.** Бляшки, утворені бактеріофагом на газоні бактерійної культури. Ліворуч – чиста культура бактерій, праворуч – культура, інокульована бактеріофагом (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).



Припускають, що бляшка є результатом зараження клітини єдиним віріоном. Якщо це так, то усі віруси, що знаходяться у бляшці, є клоном, тобто мають бути генетично ідентичними. Такий клон називають ізолятом, і якщо він відрізняється від усіх інших ізолятів, його називають штамом. Це аналогічно походженню штамів бактерій з колонії на поверхні агару.

Є імовірність, що бляшка бере походження від двох або більше віріонів, тому для збільшення вірогідності отримання генетично чистого штаму вірусу, матеріалом однієї бляшки знову заражають моношар клітин, і виділяють вірус з окремої бляшки. Про такий вірус говорять, що він був очищений методом бляшок.

Коли вірус виділяють уперше, він може погано реплікуватися в клітинах в лабораторії, проте після декількох циклів реплікації він може реплікуватися ефективніше. В результаті таких пасажів вірус може стати генетично відмінним від початкового дикого штаму; у такому випадку вірус стає лабораторним штамом.

**Центрифугування.** Після того, як вірус розмножений, зазвичай необхідно очистити його від залишків клітин та інших забруднюючих матеріалів, оскільки для досліджень, для приготування вакцин або для інших цілей найчастіше використовують очищені вірусні частки. Звичайним методом очищення є центрифугування; часткове очищення досягається диференціальним центрифугуванням, і найвища міра очищення досягається центрифугуванням в градієнті щільності.

Диференціальне центрифугування включає центрифугування з низькою швидкістю, після якого більшість віріонів залишаються в надосадковій рідині, і високошвидкісне центрифугування, після якого віруси випадають в осад у вигляді гранул (Мал. 11.4). На першому етапі центрифугування проводять, наприклад, з використанням 10 000 g 20 хвилин, а на другому етапі – за 100 000 g 2 години. Таким чином отримують препарат частково очищених віріонів.

При центрифугуванні в градієнті щільності, вірусні частки або молекули типу нуклеїнових кислот центрифугують в розчині із зростаючою концентрацією і відповідно щільністю. Як розчинну речовину при цьому використовують різноманітні сполуки, наприклад сахарозу.

Існують два типи центрифугування в градієнті щільності: швидкісне зональне і рівноважне зональне центрифугування (Мал. 11.5). Підчас швидкісного зонального центрифугування частково очищені віріони наносять на поверхню градієнта; далі частки рухаються крізь градієнт, і швидкість їх руху залежить від коефіцієнта седиментації. Величина цього коефіцієнта обумовлена в основному розміром часток. Однорідні частки, наприклад віріони вірусу, рухаються в градієнті у вигляді єдиної смуги, яку надалі можна зібрати. Центрифугування закінчують, коли частки ще не досягають дна пробірки.



**Мал. 11.4.** Часткове очищення віріонів диференціальним центрифугуванням.



**Мал. 11.5.** Очищення віріонів швидкісним зональним або рівноважним зональним центрифугуванням (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Під час рівноважного зонального центрифугування концентрацію розчину, що створює градієнт, підбирають так, щоб щільність внизу градієнта була гарантовано більшою щільності часток, які очищаються. Частки суспендують в градієнті, і потім під час центрифугування вони переміщуються в ту зону градієнта, в якій щільність розчину така ж, як і у них. Плавучу щільність віріонів в градієнті розчину хлористого цезію використовують як однієї з характеристик вірусних віріонів.

### 11.3. Дослідження структури клітин і віріонів

Розміри більшості віріонів знаходяться за межами роздільної здатності світлового мікроскопа. Проте, світлова мікроскопія є корисним методом для дослідження заражених вірусом клітин або для визначення флуоресцентних барвників, пов'язаних з молекулами антитіл, що зв'язалися з вірусними антигенами.

Особливо корисною у вірусології може виявитися конфокальна мікроскопія.

Більшість досліджень структури віріонів або заражених вірусом клітин були проведені з використанням електронного мікроскопа. Використання різних методів електронної мікроскопії дозволяє досліджувати як внутрішню структуру віріонів, так і їх тривимірну будову. Для отримання тривимірних зображень використовують зокрема кріоелектронну мікроскопію у поєднанні з комп'ютерною томографією.

Тонкі деталі тривимірної будови вірусів, вірусних нуклеїнових кислот і білків також досліджують за допомогою рентгеноструктурної кристалографії. Для цього методу отримують кристали віріонів або молекул, які необхідно вивчити. Далі кристали поміщаються в рентгенівські промені, які зазнають дифракцію завдяки побудові атомів і/або молекул, що повторюється. Аналіз характеру дифракції дозволяє встановити відносні позиції молекул і атомів.

Корисну інформацію стосовно структури вірусів дають також такі методи, як ядерний магнітний резонанс і атомна силова мікроскопія, електрофорез в гелі агарози або поліакриламиду.

#### 11.4. Ідентифікація вірусів і їхніх компонентів

Для ідентифікації вірусів і вірусних компонентів були розроблені численні методи, які використовують зокрема для діагностики вірусних захворювань. Ці методи можна розподілити на чотири категорії:

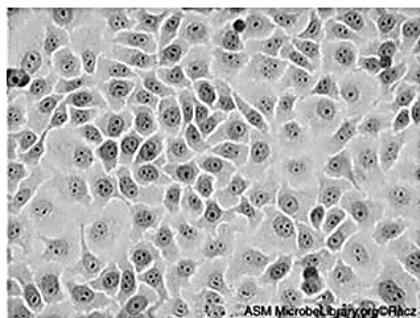
1. Виявлення віріонів.
2. Визначення інфективності вірусів.
3. Виявлення вірусних антигенів.
4. Виявлення нуклеїнових кислот вірусу.

**Виявлення віріонів.** Зразки можна негативно забарвити і досліджувати в електронному мікроскопі на присутність віріонів. Обмеженнями такого підходу є висока вартість устаткування і невисока чутливість; мінімально виявлювана концентрація віріонів складає  $10^6$ /мл. Прикладом використання такого підходу являється аналіз фекалій пацієнта з гастроентеритом на присутність ротавірусних часток.

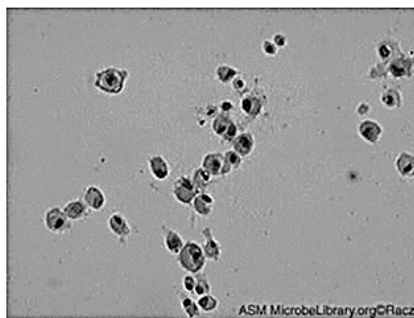
**Визначення інфективності вірусів.** Не усі віріони мають здатність реплікуватися в клітинах хазяїна. Ті віріони, які здатні це робити, називають «інфективними», і термін «інфективність» використовують для позначення здатності вірусів реплікуватися. Віріони можуть бути не інфективними через відсутність частини генома або через пошкодження.

Для встановлення, чи містять зразки інфективні віруси, ними можна інокулювати культуру клітин або організм хазяїна, для якого відомо, що він підтримує реплікацію вірусів, присутність яких очікується в зразку. Після інкубації культури клітин за відповідної температури під світловим мікроскопом можна визначити, чи з'явилися в клітинах характерні зміни, які є результатом ушкодження

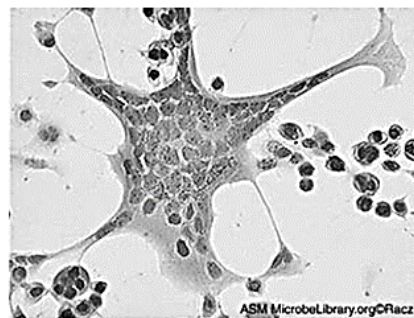
клітин вірусом. Зміни такого типу називають цитопатичним ефектом вірусу (Мал. 11.6).



Здорові клітини культури Vero



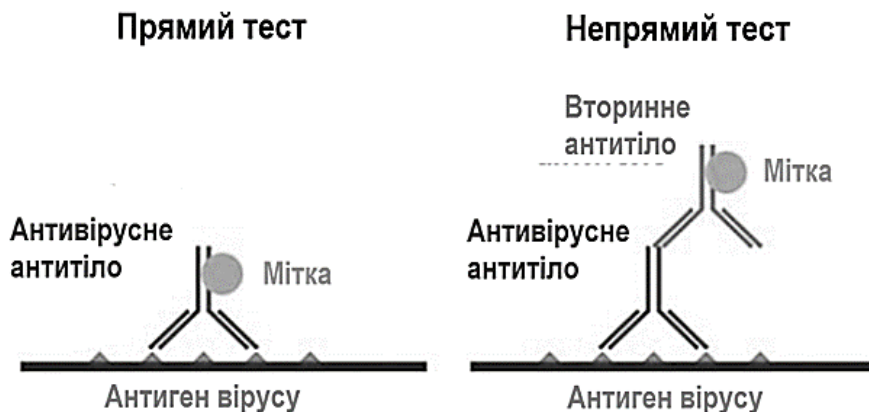
Клітини культури Vero, уражені вірусом поліомієліту



Клітини культури Vero, уражені вірусом звичайного герпесу

**Мал. 11.6.** Цитопатичні ефекти, викликані реплікацією поліовірусу і вірусу простого герпесу в культурі клітин Vero (клітини нирки мавпи). Клітини, заражені поліовірусом, зморщилися і стали округлими, тоді як мембрани заражених вірусом герпесу клітин зливаються з утворенням велетенського багатоядерного синцитію (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

**Виявлення вірусних антигенів.** Вірусні антигени виявляються з використанням специфічних для вірусу антисироваток або моноклональних антитіл. У більшості подібних методів позитивні результати виявляють по присутності мітки, яку прикріплюють або до антивірусних антитіл (прямий тест), або до вторинних антитіл (непрямий тест) (Мал. 11.7).



**Мал. 11.7.** Визначення вірусних антигенів з використанням мічених антитіл (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Антівірусні антитіла отримують під час введення вірусних антигенів тварині одного виду; вторинні антитіла отримують за умови введення імуноглобулінів з тваринного першого виду тварині другого виду.

До антивірусних антитіл можуть бути прикріплені різні види міток, які можуть виявлятися різними методами; деякі приклади наведені у Табл. 11.1.

Таблиця 11.1. Мітки для виявлення антивірусних антитіл.

Мітка	Метод виявлення мітки
Фермент	Імуноферментний аналіз (ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay)
Флуоресцентна	Флуоресцентна мікроскопія, флуорометрія
Золото	Електронна мікроскопія
Радіоактивна	Авторадіографія

### Визначення нуклеїнових кислот вірусу

**А. Гібридизація.** Вірусні геномні нуклеїнові кислоти або матричні РНК вірусів можна виявити з використанням специфічних ДНК-зондів, які несуть відповідні мітки. Гібридизація проводиться на поверхні мембран після Саузерн-блоттингу, який використовується для виявлення ДНК, або Нозерн-блоттингу, який використовується для виявлення специфічних РНК. Крім того, тонкі зрізи тканин можуть використовуватися для виявлення специфічних нуклеїнових кислот гібридизацією *in situ*.

**Б. Полімеразна ланцюгова реакція.** Коли зразок містить невелику кількість копій нуклеїнової кислоти вірусу, імовірність її виявлення може бути збільшена за допомогою ампліфікації вірусної ДНК за допомогою полімеразної ланцюгової реакції; РНК може бути скопійована у форму ДНК і потім ампліфікована за допомогою так званої RT(reverse transcriptase)-PCR.

Ця методика вимагає наявності олігонуклеотидного праймера, специфічного для послідовності вірусної нуклеїнової кислоти. Ампліфікований продукт визначається електрофорезом в гелі агарози, з подальшим перенесенням на мембрану нітроцелюлози і інкубацією з міченим зондом.

Метод так званої ПЦР в реальному часі дозволяє визначити кількість копій специфічної нуклеїнової кислоти в зразку.

### 11.5. Дослідження генетики вірусів

**Послідовності геномів.** Використання методів аналізу послідовності геномної нуклеїнової кислоти дозволяє отримати чимало інформації про віруси. З використанням комп'ютерних спеціальних програм, в геномах вірусів виявляються відкриті рамки зчитування і передбачають властивості кодованих ними білків, наприклад чи є білки асоційованими з мембранами і/або якою ферментативною активністю вони володіють. Ідентифікують регулюючі послідовності, наприклад промотори і енхансери. На підставі послідовності нуклеотидів для певних груп вірусів будуються філогенетичні відносини. У випадку спалахів захворювання,

аналіз послідовності може дозволити виявити важливу епідеміологічну інформацію, наприклад походження штаму, що викликав захворювання.

**Маніпуляції з геномами вірусів.** Для маніпуляцій з нуклеїновими кислотами вірусів, особливо ДНК, доступне досить широке коло методів. Ці методи дозволяють виділити специфічний фрагмент генома, клонувати цей фрагмент у бактерійній плазміді і ввести сайт-специфічні мутації у вірусний геном. Природний процес рекомбінації або пересортовування вірусних геномів може бути відтворений в лабораторії для отримання нових генотипів вірусів.

**Дослідження функції і експресії генів.** Функції гена можуть бути з'ясовані, якщо його експресія блокована. У численних дослідженнях були використані віруси з мутантними генами. Впродовж більш менш тривалого часу були розроблені і використовуються методи роботи в цьому аспекті з ДНК-вмісними вірусами. Відносно нещодавно були розроблені відповідні методи для РНК-вмісних вірусів. Ці методи називають зворотною генетикою, і вони включають зворотну транскрипцію, тобто синтез ДНК на геномній РНК, впровадження мутації в ДНК, і потім транскрипція з отриманням геномної РНК, такої, що несе потрібну мутацію.

Окрім мутацій, для блокування експресії генів використовується сайленсинг РНК, тобто захисний механізм хазяїна. Для сайленсинг генів використовують короткі послідовності дволанцюгової РНК, комплементарної генам, які намагаються заглушити.

Експресію генів вірусу і клітини хазяїна досліджують з використанням методу ДНК-мікрочіпа (DNA-microarray).

Після ознайомлення з цим розділом ви повинні:

- Знати методи культивування вірусів, їх недоліки і переваги
- Знати методи виділення і очищення вірусів
- Знати методи аналізу інфекційності вірусів
- Знати методи ідентифікації вірусів
- Розуміти головні підходи до вивчення генетики вірусів

### Додаткове читання до розділу 11

1. Антонова О.С., Рудницкая Г.Е., Тупик А.Н., Буляница А.Л., Евстапов А.А., Курочкин В.Е. Полимеразная цепная реакция: приборная и методическая реализация. Обзор аналитических характеристик // Научное приборостроение. 2011. Т.21, № 4. С. 5–21.
2. Носик Н.Н., Стаханова В.М. Лабораторная диагностика вирусных инфекций // Клинич. микробиол. и антимикроб. химиотерапия. 2000. Т.2, №2. С. 70–78.
3. Curry A., Appleton H., Dowsett B. Application of transmission electron microscopy to the clinical study of viral and bacterial infections: present and future // Micron.

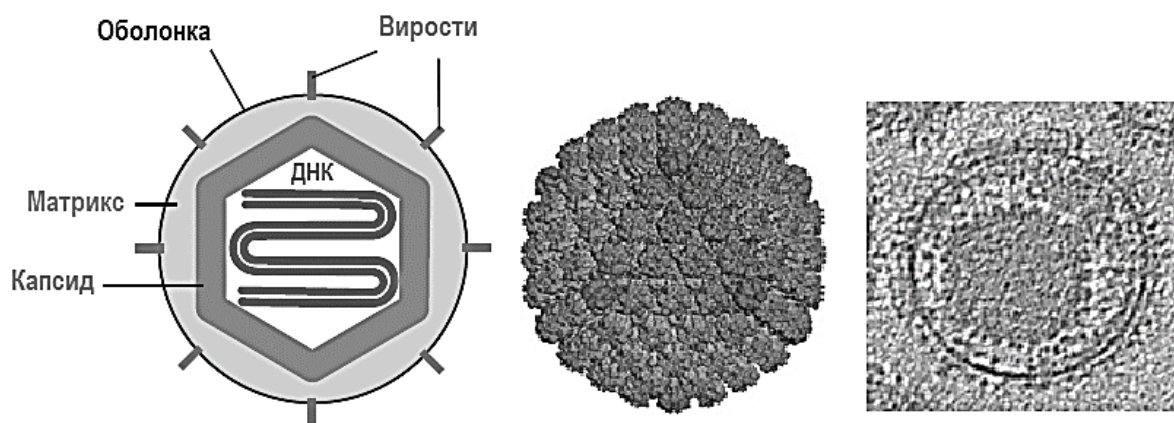
2006. Vol. 37, N. 2. P. 91–106.

4. Hazelton P. R, Gelderblom H.R. Electron microscopy for rapid diagnosis of infectious agents in emergent situations // *Emerg. Infect. Dis.* 2003. Vol. 9, N. 3. P. 294–303.
5. Niesters H.G. Molecular and diagnostic clinical virology in real time // *Clin. Microbiol. Infect.* 2004. Vol. 10, N. 1. P. 5–11.
6. Schramlová J., Arientová S., Hulínská D. The role of electron microscopy in the rapid diagnosis of viral infections – review // *Folia Microbiol.* 2010. Vol. 55, N. 1. P. 88–101.
7. Tang P. , Chiu C. Metagenomics for the discovery of novel human viruses // *Future Microbiol.* 2010. Vol. 5, N. 2. P. 177–189.
8. Watzinger F., Ebner K., Lion T. Detection and monitoring of virus infections by real-time PCR // *Mol. Aspects Med.* 2006. Vol. 27, N. 2–3. P. 254–298.

## Розділ 12. Віруси, що викликають захворювання людини і тварин

### 12.1. Віруси з дволанцюговою ДНК

**Родина *Herpesviridae*.** Назва родини походить від грецького слова *herpein* –повзати. Виділено більше 100 вірусів цієї родини, що вражають людей та інших ссавців, птахів, риб, рептилій, амфібій і молюсків. Вісім вірусів є вірусами людини. Герпесвірусами заражена переважна більшість населення нашої планети. Характеристика родини наведена у підпису до Мал. 12.1.



**Мал. 12.1.** Віріон вірусів родини *Herpesviridae*. Зліва направо: структура, реконструкція, електронна мікрофотографія. Геном являє собою лінійну дволанцюгову ДНК, розмір якої у різних вірусів герпесу варіює від 125 до 240 т.п.н. Складні віріони діаметром від 120 до 300 нм складаються з в трьох частин: капсид, матрикс і оболонка. Капсид ікосаедричний, складається з 162 капсомерів, 12 з яких є пентони, а інші - гексони. У матриксу міститься, щонайменше, 15 видів білків, а також деякі молекули мРНК вірусу (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Примітною особливістю герпесвірусів є та, що, одного разу заразивши хазяїна, вони часто залишаються як персистентна інфекція впродовж усього його життя. Часто ця інфекція є латентною, яка час від часу реактивується, особливо якщо імунітет хазяїна послаблений. Як первинна, так і реактивована інфекція герпесвірусів може бути або безсимптомною, або викликати захворювання різного ступеня тяжкості.

У людини виявлені вісім вірусів герпесу.

**Віруси простого герпесу 1 і 2.** Віруси простого герпесу 1 і 2 спочатку заражають епітеліальні клітини слизової оболонки ротової порожнини або геніталій, шкіри або рогівки. Вірус може проникати в нервові клітини і транспортуватися в їхні ядра, де здатен переходити у форму латентної інфекції.

Вірус простого герпесу 1 найчастіше заражає людину через губи або ніс. Латентна інфекція може реактивуватися, наприклад, під час стресів або зниженні імунітету за умов застуди чи переохолодження. Реактивація призводить до утворення віріонів, які приблизно в 20–40 відсотках випадків переміщуються усередині нервових волокон до місця, де віруси викликають продуктивне зараження



епітеліальних клітин. Це і призводить до захворювання – герпесу. Іноді ця хвороба може давати серйозні ускладнення, наприклад так званий герпетичний енцефаліт.

Вірус простого герпесу 2 зазвичай є збудником генітального герпесу, хвороби, що передається статевим шляхом. Він може передаватися вертикально, від дитини матері, під час внутрішньоутробного розвитку або під час пологів, і у новонароджених він може викликати важке захворювання, яке призводить до смертельного результату приблизно в 54% випадків.

Специфічність вірусів до частин тіла не є абсолютною, і є випадки, коли вірус простого герпесу 1 інфікує геніталії, а вірус простого герпесу 2 обличчя. Крім того, у момент реактивації вірусу людина сама може перенести вірус з одного місця тіла на інше.

***Вірус вітряної віспи (вірус герпесу 3).*** Вірус передається повітряно-крапельним шляхом. Зараження вірусом вітряної віспи відбувається зазвичай в дитинстві і призводить до захворювання вітряною, коли вірус поширюється по крові до шкіри, викликаючи висип. Також він може поширитися до нервових клітин, де переходить в латентний стан. Найчастіше вражаються нерви, які розташовані в ділянці обличчя або тулуба, і ці ділянки тіла є найбільш звичайним місцем прояву оперізувального герпесу, або оперізувального лишая, коли латентна інфекція реактивується.

***Вірус Епштейна-Барр (вірус герпесу 4).*** Вірус Епштейна-Барр передається слиною. Спочатку заражаються епітеліальні клітини, далі вірус поширюється у В-лімфоцити, які є основними клітинами для цього вірусу, і викликає їхню проліферацію. Цим вірусом заражаються більше 90% людей, особливо впродовж перших років життя, коли інфекція протікає практично безсимптомно. У розвинених країнах частина людей заражаються в підлітковому віці, в період статевого дозрівання. За умови зараження в цей час часто розвивається інфекційний мононуклеоз, або залізиста лихоманка. Оскільки вірус передається слиною, у лікарів така форма захворювання підлітків і молоді часто носить назву «хвороби поцілунків». Крім того, у людей вірус Епштейна-Барр асоційований з розвитком низки злоякісних пухлин (розділ 7.2).

***Цитомегаловірус людини (вірус герпесу 5).*** Має виражений тропізм до тканин слинної залози. Доволі поширений, трапляється приблизно у 40% людей. Зараження цим вірусом може відбуватися повітряно-крапельним шляхом, а також через слину під час поцілунків, статевим шляхом, у разі переливання крові, під час вагітності та пологів, а також через молоко матері під час грудного годування дитини.

При переважній більшості випадків зараження людей цитомегаловірусами симптоми або відсутні, або є слабкими. Проте у вагітних жінок вірус може заразити плаценту і згодом плід, для якого зараження може виявитися дуже серйоз-

ним. У США приблизно 1% дітей народжується зараженим цим вірусом. Приблизно у 7% заражених новонароджених наявні викликані вірусом ушкодження, як-от маленький розмір мозку і збільшення печінки і селезінки. У інших новонароджених ушкодження можуть проявитися на пізнішій стадії, включаючи втрату слуху або затримку розумового розвитку.

При зараженні в дорослішому стані, цитомегаловірус зазвичай себе ніяк не проявляє. Проте у декотрих пацієнтів з ослабленим імунітетом, наприклад у хворих СНІДом, у кого проводиться загальноприйнята протипухлинна терапія або кому призначають імунодепресанти після пересадки органів, цитомегаловірус може викликати серйозні захворювання, включаючи пневмонії і гепатити.

**Вірус герпесу людини 6 (ВГЛ-6).** ВГЛ-6 репродукується в Т-, В-лімфоцитах і макрофагах, більшою мірою вражаючи Т-лімфоцити. Має тропізм до гліальних клітин.

Механізм і шляхи передачі вивчені недостатньо. У природних умовах інфекція поширюється повітряно-крапельним і орально-оральним шляхами, оскільки ВГЧ-6 постійно виявляють в носоглотковому слизі і слині інфікованих осіб. Інфекція широко поширена серед людей, вірус мають від 60 до 96% здорових дорослих. У переважної більшості заражених ВГЧ-6 формується латентна інфекція. За умови зараження дітей можливий розвиток так званого раптового висипу, мононуклеозоподібного синдрому. Цей синдром виникає через 20–60 діб після зараження і триває 2–6 тижнів. Виявляється він високою температурою, ознобом, стомлюваністю, нездужанням та головним болем. У більшості випадків мононуклеозоподібний синдром закінчується повним одужанням.

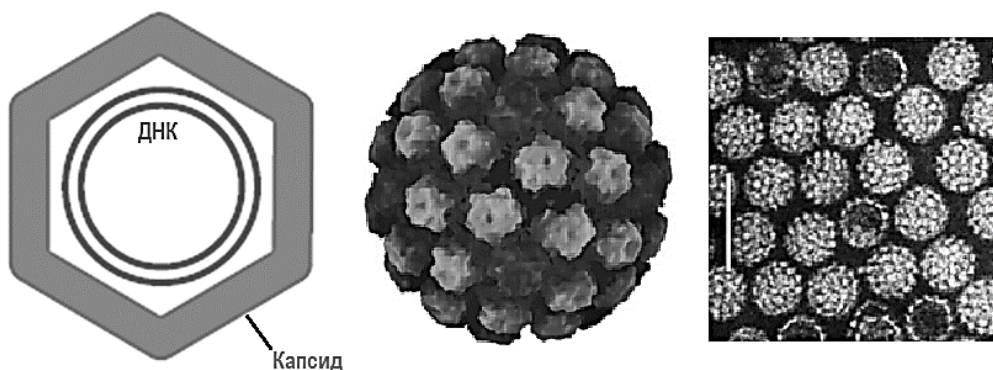
**Вірус герпесу людини 7 (ВГЛ-7).** ВГЛ-7 був виділений в культурі CD4 Т-лімфоцитів, які мають рецептори до цього вірусу. Вірус, разом у ВГЧ-6, був пов'язаний з рядом випадків раптового висипу. Є однією з можливих причин синдрому хронічної втоми.

**Герпесвіруси, що асоціюються з саркомою Капоші (вірус герпесу людини 8).** У 1994–1995 рр. у хворих СНІДом в тканинах саркоми Капоші були виявлені унікальні послідовності нуклеотидів, частково гомологічні послідовностям ДНК вірусу Епштейна-Барр. Ще не виділений вірус, якому належали ці унікальні послідовності, був названий герпесвірусом людини типу 8. Його роль в етіології саркоми Капоші та інших пухлин залишається дискусійною.

**Родини Papillomaviridae і Polyomaviridae.** До цих родин належать віруси з невеликими віріонами, які містять замкнену в кільце дволанцюгову ДНК. Характеристика приведена у підпису до Мал. 12.2.

Відомо більше 100 типів папіломавірусів людини, що розрізняється по послідовності ДНК. Назва родини походить від латинського слова *papilla* – сосочок і грецького слова *oma* – пухлина. Вони потрапляють в організм через невеликі садна і заражають клітини шкіри (кератиноцити) або клітини слизової оболонки, що синтезують кератин. Кожен тип папіломавірусу людини заражає переважні

ділянки, наприклад руки або інші місця, і зараження може привести до утворення бородавки (папіломи).



**Мал. 12.2.** Віріон вірусів родин *Papillomaviridae* і *Polyomaviridae*. Зліва направо: структура, реконструкція, електронна мікрофотографія. Смужка на фотографії дорівнює 100 нм. Генотом являє собою замкнену в кільце дволанцюгову ДНК (близько 8 т.п.н. у папіломавірусів і близько 5 т.п.н. у поліомавірусів). Віріони без оболонки, ікосаедричні, діаметром 55 нм у *Papillomaviridae* і 40–45 нм у *Polyomaviridae*, складаються з 72 капсомерів ( $T=7$ ), 12 з яких є пентони, а 60 – гексони (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Віріони поліомавірусів подібні до віріонів папіломавірусів, проте дещо менше по розмірах. У латентному стані поліомавіруси виявлені в хромосомах різних ссавців. У людини поліомавіруси розвитку пухлин зазвичай не викликають. Характерний представник – вірус мавп 40 (SV40), яким заражені сотні мільйонів людей.

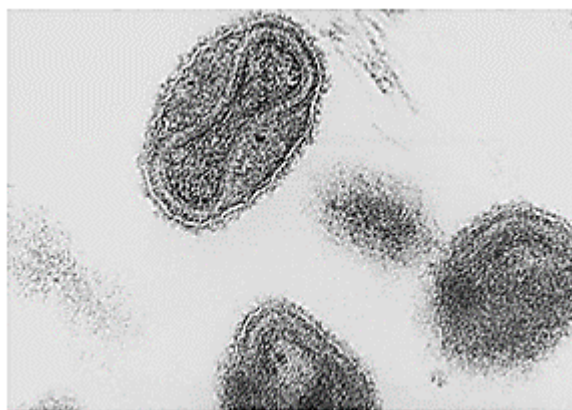
За умови зараження новонароджених мишей, щурів, кроликів та інших лабораторних тварин поліомавіруси викликають розвиток різних видів сарком і карцином. Цей факт і послужив причиною назви родини вірусів (від грец. *poly* – багато і *oma* – пухлина, скупчення).

Онкогенний потенціал вірусів цих двох родин було обговорено у розділі 7.1.

**Родина Poxviridae.** До цієї родини належать віруси, патогенні для людини (вірус натуральної віспи), а також патогенні для багатьох інших ссавців, птиць і комах.

Геном поксвірусів являє собою дволанцюгову лінійну ДНК, кінці ланцюгів якої ковалентно зв'язані. Реплікація вірусу відбувається в цитоплазмі, оскільки не залежить від білків клітини-хазяїна; усі необхідні білки кодує вірус.

Віріони є великими, плеоморфними, звичайно нагадують цеглини з закругленими краями, розміром  $220\text{--}450 \times 140\text{--}260$  нм, укрите ліпопротеїновою мембраною, на поверхні якої помітні паличкоподібні або округлі структури (Мал. 12.3). Мембрана укриває двоввігнуту або циліндричну серцевину (кор), яка складається з ДНК і білків і формує нуклеопротеїновий комплекс. У зоні між стінкою кору і мембраною, певно, присутні одно чи два латеральні тіла, структура і функція яких досі залишаються неясними.



Мал. 12.3. Віріони *Poxviridae*. Ліворуч – структура віріону, праворуч – електронна мікрофотографія віріонів вірусу натуральної віспи.

Протягом морфогенезу віріонів, поксвіруси можуть утворювати декілька форм. Так звані внутрішньоклітинні зрілі віріони мають на поверхні мембрану. Деякі з цих віріонів укриваються подвійною мембраною, брунькуючись через везикули апарату Гольджі або ендосоми, утворюючи так звані внутрішньоклітинні окутані віруси. Далі ці віріони можуть зливатися з плазматичною мембраною, втрачаючи один шар подвійної мембрани, і вивільнятися з клітини, формуючи так звані позаклітинні окутані віруси.

**Вірус віспи мавп.** Віспа мавп є захворюванням, подібним до віспи у людей. З 1970 р. в Африці відбуваються випадки зараження людини вірусом віспи мавп; деякі з таких випадків виявилися фатальними.

У 2003 р. деякі мешканці США захворіли загадковою хворобою, симптоми якої включали висип і лихоманку. Виявилось, що ці люди заражені вірусом віспи мавп, який потрапив в США з дрібними ссавцями, імпортованими з Гани. Вірус заразив лугових собак, яких тримали як домашніх вихованців, а потім перейшов на людей.

**Родина Adenoviridae.** Назва вірусів цієї родини походить від грец. adeno – залоза, оскільки перші представники цієї групи вірусів були виділені з аденоїдів людини.

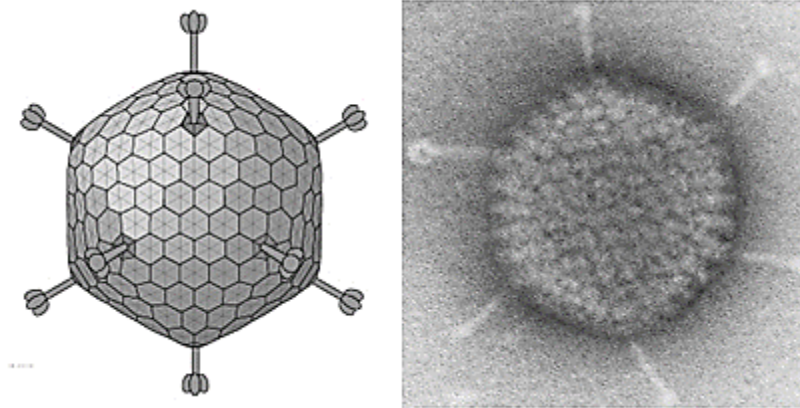
Геном являє дволанцюгову лінійну ДНК. Характеристика родини приведена у підпису до Мал. 12.4.

У людини аденовіруси є звичайними збудниками ОРЗ і кон'юнктивітів, а також кишкових інфекцій.

## 12.2. Віруси з одноланцюговою ДНК

**Родина Parvoviridae.** Парвовіруси є одними з найменших з відомих вірусів, віріони яких мають діаметри в межах 18–26 нм. Свою назву вони дістали від латинського слова parvus – маленький. Родину розділяють на дві підродини: Parvovirinae (віруси хребетних) і Densovirinae (віруси безхребетних).

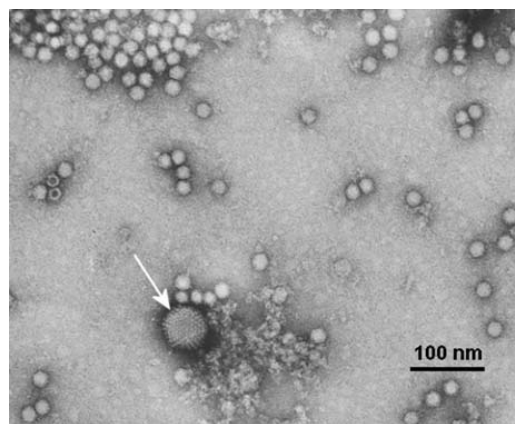
Геном парвовірусів являє собою одноланцюгову лінійну несегментовану ДНК. Віріони не мають оболонки, 18–26 нм діаметром. Капсид ікосаедричної форми, побудований з 60 білкових субодиниць, тобто містить мінімальну кількість молекул білка, яка формує ікосаедр.



**Мал. 12.4.** Віріон вірусів родини *Adenoviridae*. Ліворуч – реконструкція віріону, праворуч – електронна мікро-фотографія. Віріони не мають оболонки, 70–90 нм діаметром. Капсид з ікосаедричною симетрією ( $T=25$ ) складається з 240 гексонів і розташованих на вершинах віріона 12 пентонів, які служать основою для довгих фібрил, що виступають.

Підродина *Parvovirinae* включає цікавий рід *Dependovirus*, члени якого є дефектними і можуть нормально реплікуватися тільки за умови зараження клітини спільно з вірусом-помічником. Інші парвовіруси, які не потребують присутності вірусу-помічника, називають автономними парвовірусами.

Перший депендовірус, який спостерігали в електронному мікроскопі, виглядав як забруднення препарату аденовірусу (Мал. 12.5). Це забруднення, проте, виявилось вірусом-сателітом, реплікація якого залежала від аденовірусу. Цей вірус-сателіт дістав назву аденоасоційованого вірусу. У препаратах аденовірусів були також виявлені й інші депендовіруси; виявилось, що депендовірусна інфекція повсюдно поширена.



**Мал. 12.5.** Віріон аденовірусу (указаний стрілкою) і депендовіруси (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).



Депендовіруси виявилися дуже корисним вектором для вбудовування генів в культури клітин для продукування певних білків. Також вони досліджуються як потенційний вектор для вбудовування генів в клітини пацієнтів, що мають генетичні захворювання і пухлини. Цінною перевагою депендовірусів перед іншими системами є те, що вони не викликають ніяких захворювань, на відміну від інших вірусів, які також намагаються використати як вектори, наприклад ретровірусів.

Парвовіруси, які не вимагають вірусів-помічників, виявляють в сироватці крові, яку здають здорові донори. Вірус, який був названий по партії крові В19, заражає попередники червоних клітин крові. Багато випадків зараження вірусом В19 не призводять ні до яких симптомів або ознак захворювання, проте в деяких випадках спостерігаються хвороби, наприклад інфекційна еритема. Інфекційна еритема – поширене дитяче захворювання підчас якого у дітей з'являється така ознака, як «нашльопані щоки» (Мал. 12.6).



*Мал. 12.6. Дитина, хвора на інфекційну еритему («нашльопані щоки»)  
(за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).*

Інші захворювання, що викликаються вірусом В19, включають:

- гострий артрит;
- апластическая анемія у осіб з хронічною гемолітичною анемією;
- набряк плоду (інфекція може перенестися від вагітної жінки до плоду і може його вбити).

У 2005 р. був відкритий новий парвовірус людини з використанням методики молекулярного скринінгу для дослідження носоглоткових виділень у дітей із захворюванням нижніх дихальних шляхів. Цей вірус був віднесений до раніше відомого роду *Vocavirus*.

Віруси підродини *Densovirinae* викликають утворення щільних включень в ядрах заражених клітин. Деякі з них являються патогенами тутового шовкопряда і можуть викликати економічні втрати підчас виробництва шовку.

Віріони парвовірусів прикріплюються до рецепторів на поверхні потенційних клітин-хазяїв. У випадку вірусу В19, хазяями є попередники червоних кров'яних тілець, а рецептором служить антиген групи крові Р. Віріон входить в клітину за

допомогою ендоцитозу, вивільняється в цитоплазму, асоціює з мікротрубочками і спрямовується до ядерної пори. Віріони парвовірусів досить малі, щоб проходити через ядерну пору. У білків капсиду деяких парвовірусів знайдений сигнал ядерної локалізації. Протягом виходу віріонів з клітини оболонка ядра і клітинна мембрана розриваються, і клітина гине.

Коли клітина заражена депендовірусом і відповідним вірусом-помічником, відбувається продуктивна інфекція обох вірусів. Проте клітина може бути заражена депендовірусом у відсутності вірусу-помічника. В цьому випадку геном депендовірусу, після перетворення на форму дволанцюгової ДНК, може інтегруватися в хромосому клітини. Це призводить до латентної інфекції. У клітинах людини депендовірус завжди інтегрується в специфічній ділянці хромосоми 19. Латентна депендовірусна інфекція знайдена у низці клітинних ліній, що походять від людей або мавп. Якщо клітина з латентною інфекцією депендовірусу виявиться зараженою відповідним вірусом-помічником, спостерігається продуктивна інфекція обох вірусів.

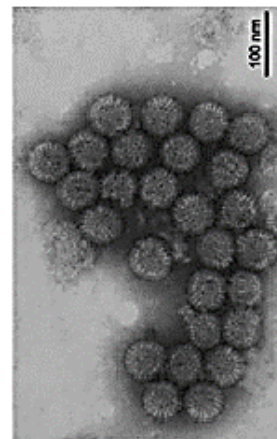
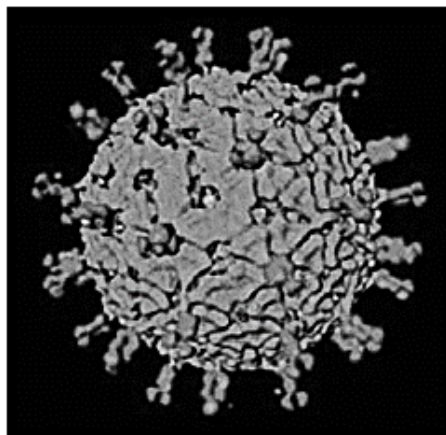
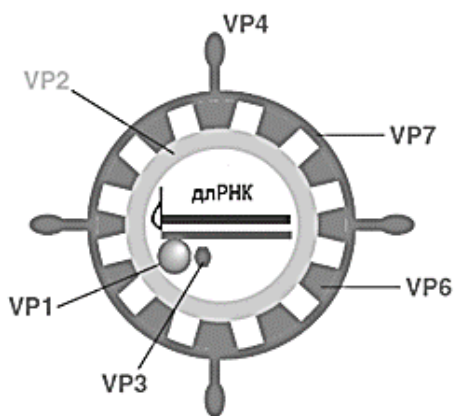
### 12.3. Віруси з дволанцюговою РНК

**Родина Reoviridae.** Чимало вірусів цієї родини виявлено у тварин, рослин і грибів. Багато хто з цих вірусів викликає захворювання, проте за нами зберегли початкову назву реовіруси, яка була дана тоді, коли з цими вірусами не асоціювали хвороби (reovirus – respiratory eteric orphan viruse, дихальний кишковий сирітський вірус).

Геном вірусів цієї родини складається з 9, 10, 11 або 12 сегментів дволанцюгової лінійної РНК. Віріони не мають оболонки, 60–80 нм діаметром. Капсид має ікосаедричну симетрію. Білки капсиду організовані в один, два або три шари, які оточують геном.

Найбільший інтерес в цій родині викликають віруси роду *Rotavirus* (ротавіруси), оскільки їх найактивніше вивчали як важливих агентів гастроентеритів людей і тварин. Ротавіруси вперше були відкриті в 1963 р., коли під електронним мікроскопом вивчали фекалії мавп і мишей. Були описані округлі віріони діаметром близько 75 нм із структурою, що нагадує спиці колеса (Мал. 12.7). По зовнішньому вигляду віруси і були названі (від латинського слова *rota* – колесо). Схожі віруси через 10 років спостерігали в зразках фекалій дітей, що страждали діареєю.

Ротавіруси заражають клітини, що називаються ентероцитами, на кінці ворсинок, що формуються в тонкій кишці. Механізм прикріплення і проникнення в клітину у ротавірусів погано зрозумілий. Припускають, що рецепторами на поверхні клітин можуть бути інтегрини. Для ротавірусів припускається, що вони можуть входити в клітину або за допомогою прямого проникнення, або за допомогою ендоцитозу. Вивільнення віріонів з клітини відбувається або завдяки лізису клітини, або за допомогою екзоцитозу.



**Мал. 12.7.** Віріон вірусів роду *Rotavirus*. Зліва направо: структура, реконструкція, електронна мікрофотографія. Капсид має ікосаедричну симетрію, побудований з трьох шарів, кожен з яких складається з окремого вірусного білка VP. Внутрішній і середній шари складаються з білків VP2 і VP6 відповідно і мають перфорації у вигляді каналів. Середній шар складається зі свого роду «спиць колеса», що і надає віріонам їхній вигляд. Зовнішній шар складається з білка VP7, який є гликозилізованим. Віріон містить ще три види білка: VP1 і VP3 містяться в ядрі (корі), а VP4 утворює 60 виступів на поверхні. На схемі зліва показані тільки чотири з 60 виступів, утворених білком VP4, і один з 11 сегментів длРНК (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

В результаті зараження ротавірусами ентероцити руйнуються, і це призводить до зниження інтенсивності поглинання води, солей і цукрів з просвіту кишечника. Окрім цього, щільні контакти між клітинами порушуються завдяки неструктурному білку вірусу NSP4; через це в просвіт кишечника поступають рідини. Усі ці ефекти вірусного зараження, разом з виділенням води і розчинів секреторними клітинами, призводить до діареї та зневоднення організму.

Лікування є відносно простим, і включає відновлення нормального рівню рідини у пацієнта розчинами солей і цукрів. Нажаль, ці засоби в деяких регіонах світу недоступні. В наслідок цього через ротавірусну інфекцію щороку на Землі помирає близько півмільйона немовлят і маленьких дітей.

Проблемою для вірусів з дволанцюговою РНК є те, що така РНК є індуктором низки захисних реакцій клітини, включаючи сайленсинг РНК. Більшість з цих вірусів, включаючи ротавіруси, вирішують цю проблему у такий спосіб, що їхня РНК увесь період реплікації залишається усередині структури з вірусних білків і не вивільняється в цитоплазму.

**Вірус «синього язика».** Вірус «синього язика», або блутангу, або катаральної лихоманки овець, належить до роду *Orbivirus*. Він викликає захворювання жуйних тварин, включаючи овець, кіз і корів. Переносниками вірусу служать комахи.

Усі жуйні тварини сприйнятливі до вірусу, проте зараження призводить до важкого захворювання тільки у деяких хазяїв, головним чином у деяких порід овець і деяких видів оленів. У хворих тварин язик може стати опухлим і набути синього кольору. Заражені і не хворі інфіковані тварини є резервуаром інфекції.



Вірус переноситься деякими видами кусючої мошки роду *Culicoides*, таким чином зона поширення вірусу обмежена територіями, де трапляються ці мошки. Крім того, передача вірусу обмежена часом, коли мошки є активними.

Блутанг впродовж тривалого часу відомий в Африці і на Середньому Сході. У Європі цей вірус траплявся тільки зрідка, проте з 1998 р. вірус почав поширюватися на північ. В 2004 р. він проявився на 800 км північніше, ніж коли-небудь раніше, і захворювання вбило більше мільйона овець. Виявилось, що мошки, які служать переносником вірусу, почали поширюватися на північ, в Європу, ймовірно внаслідок потепління клімату.

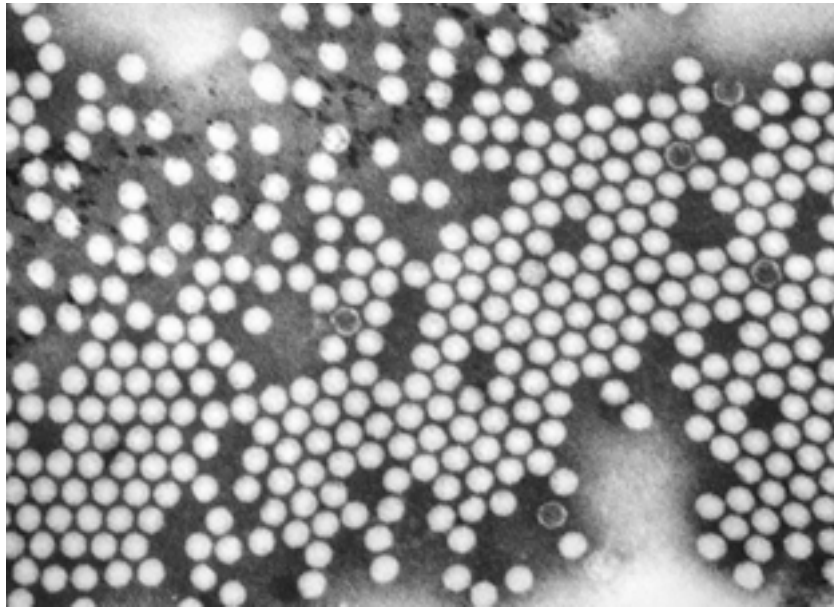
#### 12.4. Віруси, що містять плюс-ланцюг РНК

**Родина Picornaviridae.** Представники пікорнавірусів виявлені у ссавців і птахів. Свою назву пікорнавіруси отримали від сполучення іспанського слова *riso* – мала величина і англomовного скорочення RNA (РНК). Таким чином, пікорнавіруси є невеликими РНК-геномними вірусами, що мають відносно просту структуру. Їхній геном представлений плюс-ланцюгом РНК, який може функціонувати як мРНК, коли вивільняється в цитоплазму.

Віріони не мають оболонки, 22–30 нм у діаметрі. Капсид пікорнавірусів має ікосаедричну симетрію і побудований з 60 структурних одиниць, кожна з яких складається з однієї копії вірусних білків, які позначають як VP1, VP2, VP3 і VP4 (Мал. 12.8).

Деякі пікорнавіруси є дуже важливими, оскільки викликають важкі захворювання у людини і свійських тварин.

**Вірус гепатиту А.** Гепатит А особливо поширений в країнах, що розвиваються, з поганою санітарією. У більшості новонароджених або маленьких дітей інфекція протікає безсимптомно або з середньою тяжкістю, і призводить до довічного імунітету. За умови зараження дорослих людей в 75% випадків розвивається жовтяниця. Рідкісним ускладненням є важкий гепатит, який може бути фатальним. Вірус передається по фекально-оральному шляху, через заражену їжу і воду. Після попадання в організм, вірус гепатиту А проникає в кровоносну систему через клітини епітелію ротової частини глотки або кишковик. Вірус є гепатотропним, і коли кров переносить його до печінки, вірусні частки заражають гепатоцити і клітини Купфера (спеціалізовані макрофаги печінки, що руйнують в першу чергу нефункціональні клітини крові).



*Мал. 12.8. Електронна мікрофотографія віріонів пікорнавірусів  
(за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).*

**Поліовірус.** Поліовірус, збудник поліомієліту, є об'єктом пильних досліджень, оскільки може призводити до паралічу. Фактично у більшості випадків зараження вірусом поліомієліту виявляється безпечніше за інші інфекції ротоглотки або кишківника. Серйозне захворювання відбувається тільки після того, як зараженими стають інші тканини внаслідок віремії – попадання вірусу в кров – і поширення вірусу до центральної нервової системи.

Збудник належить до групи ентеровірусів (кишкових вірусів). Джерело інфекції – людина (хворий або той, що переносить зараження безсимптомно); збудник виділяється через рот і з екскрементами. Зараження може статися повітряно-краплинним шляхом, але частіше – підчас попадання в рот активного вірусу (через забруднені руки, їжу). Механічним переносником вірусу можуть бути мухи.

Вхідними воротами інфекції є слизова оболонка носоглотки або кишківника. Під час інкубаційного періоду вірус розмножується в лімфоїдних утвореннях глотки і кишківника, потім може проникнути в кров і досягти нервових клітин. Зараження поліовірусами центральної нервової системи може привести до менінгіту (після якого більшість пацієнтів повністю видужують), енцефаліту і/або паралітичного поліомієліту. Паралітичний поліомієліт обумовлений реплікацією вірусів в моторних нейронах спинного мозку або стоволової частини головного мозку. Нервові клітини піддаються дистрофічно-некротичним змінам, розпадаються і гинуть, що призводить до паралічу м'язів кінцівок або навіть дихальних м'язів. У м'язах, іннервація яких постраждала, розвивається атрофія (Мал. 7.8).

Цікаво, що незабаром після входу вірусу поліомієліту в клітину, експресія генів хазяїна припиняється. Було показано, що у клітинах, заражених поліовірусом, усі три типи РНК-полімераз хазяїна інгібуються, припиняючи транскрипцію.

Трансляція існуючих мРНК хазяїна також припиняється, оскільки протеаза вірусу розщеплює фактори ініціації трансляції клітини-хазяїна. Ці фактори потрібні для трансляції кепованих мРНК, проте оскільки мРНК вірусу не мають кепа і використовують незалежний від кепа механізм трансляції, трансляція вірусного білка не порушується.



*Мал. 12.9. Діти, уражені паралітичним поліомієлітом (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).*

Спалахи поліомієліту стимулювали дослідницькі програми по розробці вакцин, і ці зусилля привели до появи інактивованої вакцини і атенуйованої (послабленої) вакцини. Використання обох типів вакцини забезпечило дуже ефективну профілактику поліомієліту, і на початку 21 століття щорічна кількість випадків захворювання знизилася до 3500, що складає 1% випадків від 1988 року. Поліомієліт фактично є викореним у багатьох частинах земної кулі; очікується, що незабаром станеться його повна ліквідація.

**Вірус Коксакі.** Це ентеровірус, який добре розмножується в шлунково-кишковому тракті. Вірус дістав назву за містом Коксакі (США), де він був знайдений в 1948 р. дослідниками, які шукали спосіб лікування поліомієліту. Вірус Коксакі може викликати ряд медичних проблем, включаючи міокардит, менінгіти і висипання. Цей вірус поширений повсюдно; зростання захворюваності відзначають у літньо-осінні місяці. Основні механізми передачі вірусів Коксакі – фекально-оральний і контактний (з виділеннями носоглотки). Шляхи проникнення вірусів Коксакі і поширення ідентичні таким у поліовірусів.

**Риновіруси** є найбільш звичайними агентами, що викликають інфекції верхніх дихальних шляхів у людей (ОРЗ). У дорослих близько 50% випадків застуди викликані саме риновірусами. Реплікація риновірусів відбувається в епітелії верхніх дихальних шляхів. Деякі риновіруси ймовірно можуть викликати захворювання і нижніх дихальних шляхів.

**Вірус ящура** має набагато ширше коло хазяїв, ніж інші пікорнавіруси. Він заражає цілу низку ссавців, таких як корови, вівці, кози і свині. Вірус ящура проявляє дерматотропність, тобто тропізм до клітин шкірних покривів. У хворих тварин стають ураженими ступні і язики. Вірус ящура у випадку епізоотій заподіює величезний збиток тваринництву.

**Родина Flaviviridae.** Родина дістала таку назву від вірусу жовтої лихоманки (лат. flavus - жовтий). Жовта лихоманка, у свою чергу, зветься так через жовтяницю, що розвивається у деяких пацієнтів. Геном складається з несеgmentованої одноланцюгової (+)РНК, яка одночасно є мРНК вірусу. Особливістю геномної РНК вірусу є відсутність полі(А) хвоста на 3'-кінці. Віріони покриті ліпідною оболонкою, мають сферичну форму, діаметр близько 40–60 нм; розмір віріонів варіює у різних родів.

Родина містить низку некласифікованих вірусів і три роди:

*Flavivirus* – характерні види вірус жовтої лихоманки, вірус Західного Нілу, вірус лихоманки Денге.

*Hepacivirus* – цей рід містить єдиний вид, вірус гепатиту С.

*Pestivirus* – характерні види вірус діареї худоби, вірус класичної лихоманки або чуми свиней.

Найбільш небезпечними захворюваннями, які викликають віруси цієї родини, наведені нижче.

**Вірус жовтої лихоманки** викликає гостре захворювання, поширене в Африці і Південній Америці. Передається з укусом комарів. Джерелом і резервуаром інфекції служать дикі тварини (мавпи, опосуми, рідко інші види), а також хвора людина. Переносники – комарі.

Існує три варіанти жовтої лихоманки у людей. Це лихоманка джунглів (сільський тип), міська лихоманка і проміжний тип. У випадку сільського типу у тропічних лісах (сельві) жовта лихоманка має місце у мавп, інфікованих укусами «диких» комарів (комарі роду *Aedes*). Заражені мавпи можуть поширювати інфекцію, передаючи її здоровим комарам. Інфіковані «дикі» комарі з укусом передають вірус людям, що знаходяться в лісі. Цей ланцюжок приводить до окремих випадків інфекції переважно у молодих людей, що працюють на лісозаготівлі, не приводячи до епідемій і великим спалахів. Інфекція також може поширюватися і між інфікованими людьми. Проміжний варіант інфекції має місце у вологих або напівсухих африканських саванах, є домінуючою формою інфекції на території континенту. Мають місце епідемії обмеженого масштабу, що відрізняються від міського варіанту інфекції. «Напівдомашні» комарі заражають і тварин, і людей.

Протягом таких епідемій одночасно може бути уражено кілька сіл, однак летальність за такого варіанта жовтої лихоманки нижче, ніж у випадку міського. Міський варіант інфекції супроводжується епідеміями великого масштабу, які викликані припливом мігрантів в урбанізовані регіони, що відрізняються високою щільністю населення. «Домашні комарі» (виду *Aedes aegypti*) переносять вірус від людини до людини, мавпи не беруть участь в епідемічній ланцюжку передачі захворювання.

Загалом, щорічно у світі відбувається близько 200000 випадків захворювання жовтою лихоманкою, з яких 15% закінчуються смертю.

Вірус жовтої лихоманки проникає в організм людини під час укусу інфікованим комаром. Відомі випадки лабораторних заражень аерогенним шляхом. Від місця впровадження збудник поширюється по лімфатичних шляхах і досягає регіонарних лімфатичних вузлів, де відбувається його реплікація і накопичення. Через декілька днів вірус проникає в кров, де його можна виявити впродовж 3–5 днів. Гематогенним шляхом вірус проникає в різні органи (печінка, селезінка, нирки, кістковий мозок, лімфатичні вузли), викликаючи їх ураження. Розвивається тромбогеморагічний синдром, який проявляється у вигляді множинних крововиливів в різних органах. Ураження печінки веде до вираженої жовтяниці. Зміни виявляють в нирках (набряк, крововиливи, некроз ниркових каналців), селезінці, міокарді, лімфатичних вузлах.

У важких випадках смерть настає від ниркової недостатності або інфекційного колапсу (інфекційно-токсичного шоку). У випадку сприятливого результату з 7–9-ї діб стан хворого поступово покращується. У легких випадках симптоми хвороби виражені слабо, жовтяниці і тромбогеморагічного синдрому може не бути. За умови дуже важкої форми хворі можуть померти на 2–3-й день хвороби ще до розвитку жовтяниці (блискавична форма).

У людей, що перенесли хворобу, виникає довічний імунітет.

Специфічних препаратів для лікування жовтої лихоманки не існує.

Заходи профілактики включають вакцинацію людей, що виїжджають в ендемічні райони. Вакцина містить ослаблений вірус, і надійний імунітет розвивається впродовж одного тижня у 95% прищеплених і зберігається впродовж 30–35 років (можливо довічно).

Хворий є джерелом зараження навіть у випадку легких форм захворювання і має бути абсолютно захищений від укусів комарів. З цією метою навколо ліжка встановлюють сітки, металеві або марлеві. Така ізоляція хворого потрібна упродовж перших 4 днів, оскільки пізніше за цей термін він вже не є джерелом зараження комарів.

Неспецифічна профілактика включає запобігання укусам комарів і дезінфекцію довколишніх водойм.

**Вірус лихоманки Денге** передається комарами і у випадку первинного зараження викликає середньої тяжкості гарячковий стан, схожий з грипом, або не

викликає ніяких симптомів. Віруси циркулюють в крові інфікованих людей впродовж 2–7 днів, і приблизно впродовж цього ж часу триває лихоманка. Після первинного зараження у людини залишаються антитіла до вірусу, і за умови повторного зараження, використовуючи антитіла як рецептори, вірус заражає моноцити і макрофаги. Активна реплікація вірусу в цих клітинах може призводити до серії вторинних реакцій (активація комплементу, системи кінінів та ін.) і до розвитку тромбогеморагічного синдрому, що призводить до загрозової для життя геморагічної лихоманці Денге або шокowego синдрому Денге. Підчас цього у хворого підвищується проникність і крихкість капілярів, знижується зміст тромбоцитів, розвивається кровотеча внаслідок недостатності деяких факторів системи згортання крові. Геморагічні прояви виникають не лише в шкірі, слизових оболонках, але і у внутрішніх органах: ендо- і перикарді, плеврі, очеревині, слизовій оболонці шлунку, кишківнику, головному мозку.

**Вірус гепатиту С.** Гепатит С звать «ласкавим вбивцею» через здатність маскуватися під виглядом безлічі інших захворювань. Він щорічно вбиває більше півмільйона жителів нашої планети. Зараження вірусом гепатиту С відбувається парентерально, тобто не через шлунково-кишковий тракт. Заразитися гепатитом, який знищує печінку, можна в манікюрному кабінеті, через зубну щітку, підчас переливання крові, через шприц, в перукарні, роблячи пірсинг або татуювання. Джерелом інфекції є хворі з активною формою гепатиту С і люди, що несуть вірус в латентній формі.

Від моменту зараження до клінічних проявів проходить від 2-х до 26-и тижнів.

У більшості випадків ніяких клінічних проявів хвороби підчас первинного зараження не виникає і людина довгі роки не підозрює, що хворіє, але вона є джерелом інфекції.

Часто люди дізнаються про те, що вони є переносником вірусу гепатиту С після здачі аналізу крові протягом звичайного медичного обстеження або підчас донорства крові. Багато людей живуть від 20 до 40 років з вірусом і не стають серйозно хворими, і у них не розвивається печінкової недостатності. Проте хронічна форма хвороби нерідко переходить в цироз і рак печінки. Хронічний перебіг розвивається приблизно у 90% дорослих хворих і до 20% – у хворих дітей.

**Вірус лихоманки Західного Нілу.** У 1999 р. деякі мешканці Нью-Йорка захворіли вірусним енцефалітом; частина хворих померла. В цей же час захворіли деякі птахи в зоопарку, спостерігалася і загибель диких птахів, особливо ворон. Діагностичні тести показали, що хворі люди і птахи були інфіковані вірусом Західного Нілу. Цей вірус відомий з 1937 року, коли уперше був виділений у жінки в регіоні Західного Нілу в Уганді. Окрім Африки, цей вірус траплявся в Східній Європі, Західній Азії і Середньому Сході, але ніколи до 1999 р. не траплявся в Північній Америці. У більшості випадків зараження людей вірусом Західного Нілу протікає безсимптомно, але близько 20% інфікованих захворює. Симпто-

мами захворювання є лихоманка і біль в м'язах. Менш ніж у одного відсотка інфікованих людей захворювання поширюється до центральної нервової системи, викликаючи важке захворювання типу енцефаліту, який може призвести до смерті. Як правило, це трапляється у людей старше 60 років. Захворювання, що викликається вірусом, відоме як енцефаліт Західного Нілу або лихоманка Західного Нілу.

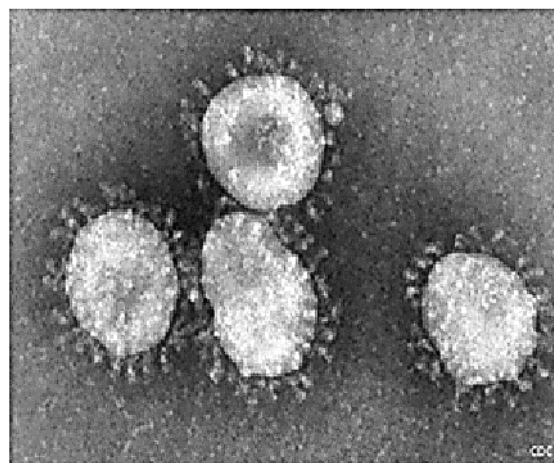
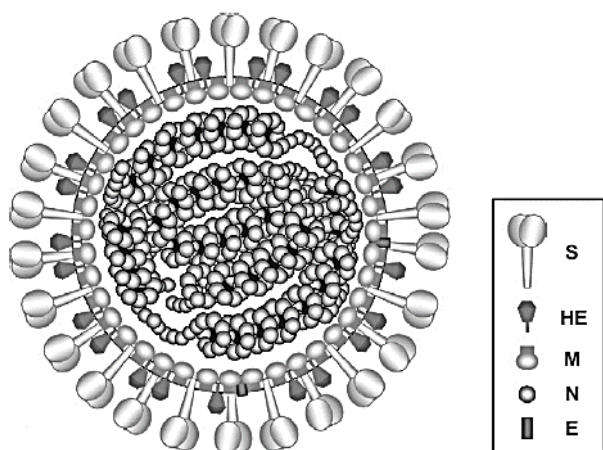
Вірус має широке коло хазяїв і вражає птахів, людей та інших хребетних тварин. Також він реплікується в комарах, які і є переносниками вірусу між різними хребетними тваринами. Захист від цього вірусу включає використання репелентів, що відлякують комах, і обробку ділянок розмноження комарів інсектицидами.

Залишається невідомим, яким чином вірус потрапив до США в 1999 році; проте нині він широко поширився, за п'ять років досягнувши Канади, Центральної Америки і Карибських островів. Цей вірус викликав сотні смертей людей в Північній Америці. Напевно вірус поширяється птахами, оскільки специфічні до нього антитіла були виявлені у сорок і чорних дроздів, хоча птахи були здоровими.

**Родина Coronaviridae.** Геном вірусів цієї родини представлений несеgmentованою одноланцюговою (+)РНК.

Віріони мають оболонку і прикрашені довгими, 15–20 нм, виступами, які утворюють щось на кшталт корони. Через них родина і дістала свою назву. Віріони плеоморфні і мають розмір 70–200 нм по різних осях. Нуклеокапсид має спіральну симетрію і складається з РНК, зв'язаною з множинними копіями єдиного фосфопротеїну (Мал. 12.10).

У людей коронавіруси викликають переважно ОРЗ, вражаючи верхні дихальні шляхи. Але нещодавно з'явилися нові коронавіруси, які є досить небезпечними для людини. У 2002 р. нове респіраторне захворювання людини з'явилося в південному Китаї. Наступного р. один з лікарів, який лікував хворих, поїхав в подорож до Гонконгу, де захворів і помер. Згодом люди, які зупинялися в тому ж готелі, що і цей, поїхали в Сінгапур, В'єтнам, Канаду і США, і вони приховили з собою інфекційний агент. Таким чином почалася епідемія захворювання, яке отримало назву важкого гострого респіраторного синдрому (ВГРС), або атиповій пневмонії. Слід зазначити, що влада Китаю спочатку приховувала факт появи нового захворювання, що сприяло його поширенню.



Мал. 12.10. Віріон вірусів родини *Coronaviridae*. Ліворуч – схема будови, праворуч – електронна мікрофотографія віріонів. *S* – білок, з якого побудовані виступи; *HE* – гемаглютинін-естераза (її мають окремі групи коронавірусів), *M* – інтегральний глікопротеїн мембрани; *E* – білок оболонки, який є мінорним структурним компонентом і присутній у кількості близько 20 молекул на віріон; *N* – білок нуклеокапсиду, який зв'язується з одноланцюговою РНК.

Ознаки і симптоми атипової пневмонії нагадували грип і включали жар, біль в м'язах і горлі, кашель і задишку. Близько 90% видужували, але для інших 10% це захворювання виявилось летальним. Це були в основному люди, які мали додаткові захворювання, типу діабету, хвороб серця або послаблений імунітет. На перший погляд атипова пневмонія належить до хвороб дихальних шляхів, але у багатьох хворих інфекція поширювалася також на інші частини тіла. У деяких пацієнтів розвивалася діарея, і через декілька тижнів вірус знаходили в калі і сечі.

Причиною захворювання виявився новий коронавірус. У природі не знайдено видів, що є резервуаром для вірусу атипової пневмонії. Коронавіруси з близькими вірусу атипової пневмонії геномами були виділені у продавців тварин в регіоні Китаю, де атипова пневмонія уперше з'явилася. Антитіла до цих вірусів були знайдені у працівників магазинів, але ніхто з них не хворів на атипову пневмонію. Схожий вірус також був виділений з декількох видів кажанів. Існує імовірність, що коронавіруси людини та інших видів ссавців неодноразово схрещувалися в організмі людей, але більшість вірусів, що з'явилися таким шляхом, були нездатні ефективно передаватися від людини людині.

Швидше за все, коронавірус атипової пневмонії виявився результатом подібного схрещування рідкісних вірусів, який придбав здатність передачі від однієї людини до іншої. Спалах атипової пневмонії контролювався з використанням карантинних заходів, проте було зафіксовано 8437 випадків захворювання, серед хворих біля 800 людей померло.

**Коронавірус близькосхідного респіраторного синдрому.** Перші випадки захворювання, яке спричинив новий вірус, були зареєстровані у людей на початку осені 2012 р. у Саудівській Аравії. Захворювання з переважним ураженням органів дихання спричиняв новий вид вірусу з роду *Betacoronavirus*, підродина

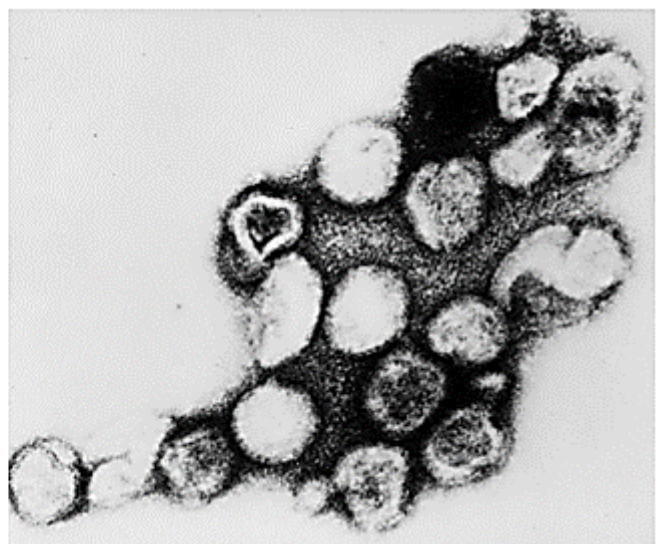
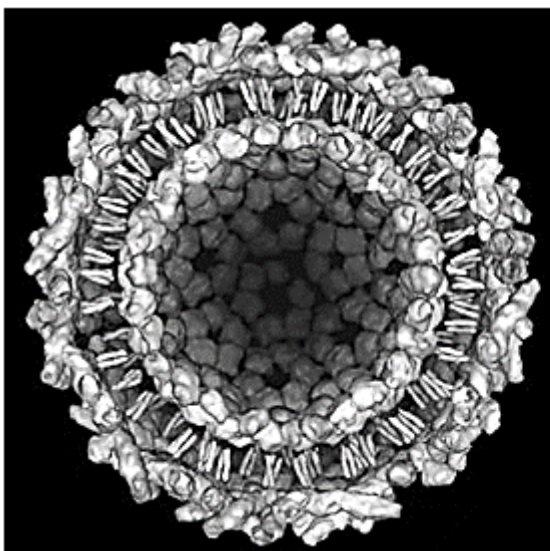


Coronavirinae, який в 2013 р. отримав офіційну назву «коронавірус близькосхідного респіраторного синдрому» (Middle East respiratory syndrome coronavirus, MERS-CoV). До літа 2015 випадки MERS-CoV були виявлені в 23 країнах світу, включаючи, зокрема, Саудівську Аравію, Велику Британію, Катар, Ємен, Об'єднані Арабські Емірати, Францію, Німеччину, Італію, Грецію, Туніс, Єгипет, Малайзію, Південну Корею. Станом на 27 січня 2016 р. згідно сповіщень ВООЗ в світі зареєстровано 1 638 підтверджених випадків захворювання, яке спричинює збудник БКРС, зокрема зафіксовано 587 смертей. Припускають, що вірус MERS-CoV перейшов на людей від верблюдів.

**Родина Togaviridae.** Генотогавірусів являє собою несегментовану одноланцюгову (+)РНК, що має кеп на 5'-кінці і полі(А) хвіст на 3'-кінці. Віріони мають оболонку і утворюють сферичні частки діаметром 65–70 нм, з виступами глікопротеїну. Нуклеокапсиди мають ікосаедричну симетрію, побудовані з 240 мономерів (T=4) (Мал. 12.11).

Родина включає два роди: *Alphavirus* і *Rubivirus*.

Альфовіруси викликають захворювання тварин і людини. Переносники вірусів і резервуари інфекції – членистоногі (комарі і кліщі), які трансваріально передають їх потомству, а також примати. Прояв захворювання сезонний, осередковий. Патогенез і клініка альфовірусних інфекцій різноманітний. Це – або лихоманка (Синдбіс, Карельська, Чикунгунья, О'Ньон-Ньонг, лісу Семлики) з більш-менш вираженими ураженнями внутрішніх органів (печінка, селезінка), іноді з появою висипів, або важкі форми енцефаломієлітів (Східний, Західний, Венесуельський).



**Мал. 12.11.** Віріон вірусів родини *Togaviridae*.  
Ліворуч – схема будови, праворуч – електронна мікрофотографія віріонів.

До рубівірусів належить збудник краснухи (лат. rubella) – епідемічного вірусного захворювання з інкубаційним періодом близько 15–24 діб. Після інкубаційного періоду з’являється помірна температура з головним болем, фарингітом, кон’юнктивітом, висипанням. Це зазвичай досить безпечне захворювання, що зачіпає в основному дітей, але воно може спровокувати серйозні вроджені вади, якщо жінка заражається на початку вагітності.

Джерелом інфекції є тільки людина. Це або хворі клінічно вираженою формою краснухи, або особи, у яких краснуха протікає атипово, без висипу, а також діти з природженою краснухою, в організмі яких вірус може зберігатися протягом багатьох місяців (до 1,5 років і більше). До введення в практику активної імунізації краснуха траплялася у вигляді епідемічних спалахів з інтервалом 6–9 років. Введення щеплень проявилось в різкому зниженні захворюваності. Наприклад, в США в 1964 р. зареєстровано більше 1,8 млн. хворих краснухою, причому в результаті природженої краснухи народилося понад 20000 дітей з аномаліями розвитку. У 1984 р. краснухою захворіло всього 745 чоловік.

Вірус краснухи протягом природної інфекції проникає в організм через слизові оболонки дихальних шляхів. Надалі настає віремія. З кров’ю вірус розноситься по усьому організму, має дерматотропні властивості, викликає зміни лімфатичних вузлів, які збільшуються вже у кінці інкубаційного періоду. Антитіла в сироватці з’являються через 1–2 дні після висипання. Надалі їхній титр наростає. Після перенесеного захворювання антитіла зберігаються протягом усього життя. Імунітет стійкий довічний.

Вірус краснухи має тропізм до ембріональної тканини, значно порушує розвиток плоду. Частота поразок плоду залежить від термінів вагітності. Захворювання краснухою на 3-4-му тижнях вагітності обумовлює природжене каліцтво в 60% випадків, на 9-12-му тижні – в 15% і на 13-16-му тижні – в 7% випадків. За умови захворюванні вагітних краснухою підчас віремії вірус потрапляє в плаценту, там розмножується і інфікує плід. Інфекція викликає порушення мітотичної активності, хромосомні зміни, що призводить до відставання у фізичному і розумовому розвитку. За умови природженої краснухи, незважаючи на наявність в сироватці крові антитіл до вірусу, збудник тривалий час (до 31 місяця) зберігається в організмі дитини. Дитина протягом усього цього часу може бути джерелом інфекції для інших дітей.

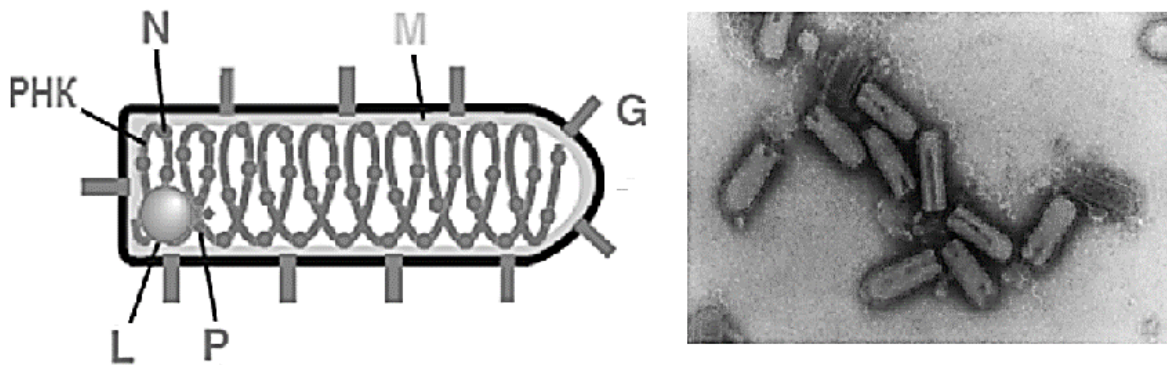
## 12.5. Віруси, що містять мінус-ланцюг РНК

**Родина Rhabdoviridae.** Рабдовіруси мають геном, що містить (–)РНК розміром 11–15 тис. пар нуклеотидів. Назву ці віруси дістали від грецького слова *rhabdos*, яке означає паличка. Віріони деяких рабдовірусів, особливо тих, які вражають рослини, має форму палички із закругленими кінцями, тоді як інші рабдовіруси, в основному ті, які вражають тварин, мають форму кулі з рушниці.

Віріони рабдовірусів покриті оболонкою, нуклеокапсид має спіральну симетрію (Мал. 12.12).

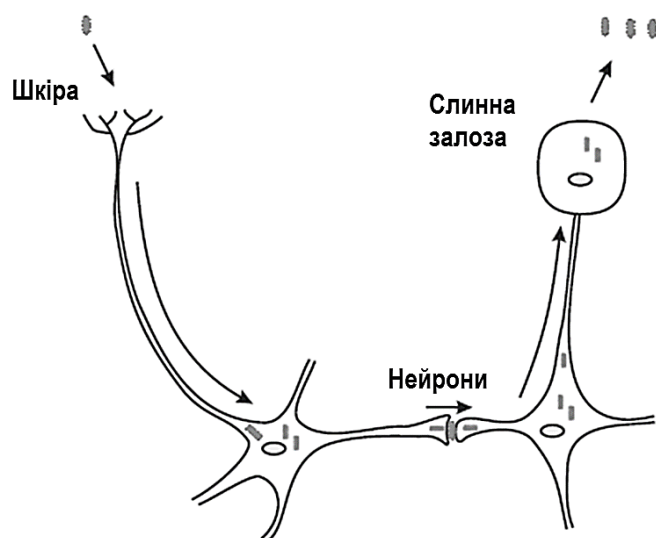
Рабдовіруси вражають багатьох хазяїв, що належать до тварин і рослин. Багато рабдовірусів мають широке коло хазяїв, і наприклад рабдовіруси рослин можуть здійснювати реплікацію як в рослині, так і в комасі-переноснику.

Важливим представником цієї родини є вірус сказу. Він, як і багато інші рабдовіруси, має виключно широке коло хазяїв. У природі цей вірус заражає дуже багато видів ссавців, а в умовах лабораторії можуть також бути заражені птахи і лінії клітин рептилій і комах.



Мал. 12.12. Віріон вірусів родини *Rhabdoviridae*. Ліворуч – схема будови, праворуч – електронна мікрофотографія віріонів. Усі рабдовіруси містять у віріоні п'ять білків: нуклеопротеїн покриває РНК, формуючи нуклеокапсид зі спіральною симетрією. З нуклеокапсидом пов'язані білки Р (фосфопроєїн) і L (великий білок). Білок матриксу М утворює шар між нуклеокапсидом і оболонкою віріона, і глікопротеїн G у вигляді тримерів проникає через оболонку і формує виступи.

Вірус сказу викликає специфічний енцефаліт (запалення головного мозку) у тварин і людини. Передається із слиною підчас укусу хворою твариною. Вірус, який міститься в слині, через пошкоджену шкіру дістає доступ до нервових клітин (Мал. 12.13). Потім, поширюючись по нервових шляхах, вірус досягає слинних залоз і нервових клітин кори головного мозку, гіпокампу, бульбарних центрів, і, вражаючи їх, викликає важкі безповоротні порушення.



**Мал. 12.13.** Шлях вірусу сказу в тілі тварини (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Щороку сказ вбиває значну кількість людей, собак, великої рогатої худоби та інших видів тварин. Точні цифри не відомі, але за оцінками, сказ щорічно вбиває більше 60000 людей. Більшість заражень людини відбуваються через укуси скажених собак.

У багатьох регіонах світу основним резервуаром вірусу сказу служить єдиний вид тварини; наприклад в Західній Європі це руда лисиця, а в Австралії кажани.

**Родина Orthomyxoviridae.** Геном ортоміксовірусів складається з сегментів одноланцюгової лінійної (–)РНК. Кількість сегментів залежить від виду вірусу і складає вісім у вірусів грипу А і В і сім у вірусу грипу С.

Віріони покриті оболонкою, сферичні або плеоморфні, діаметром 80–120 нм. Кожен сегмент геномної РНК формує нуклеокапсид, що має спіральну симетрію. На поверхні віріона є виступи глікопротеїнів і неглікозильованих білків завдовжки 10–14 нм (Мал. 12.14).

До родина Orthomyxoviridae належать п'ять родів, з яких найбільш важливими є:

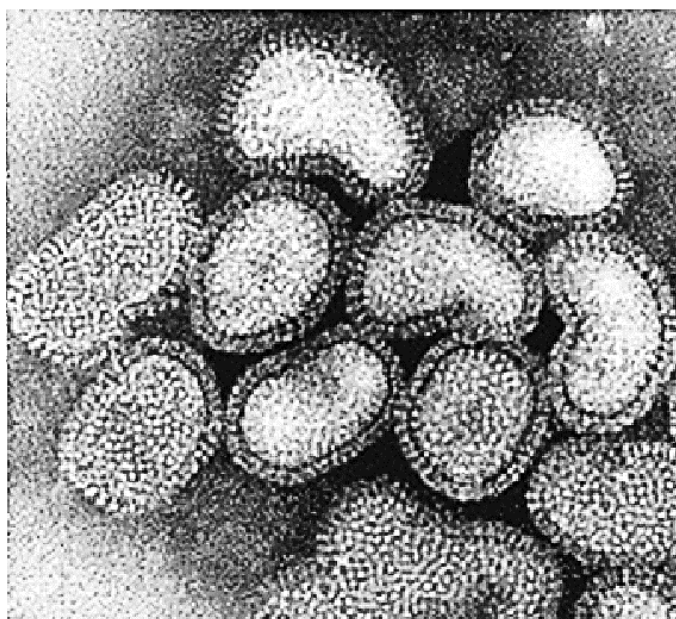
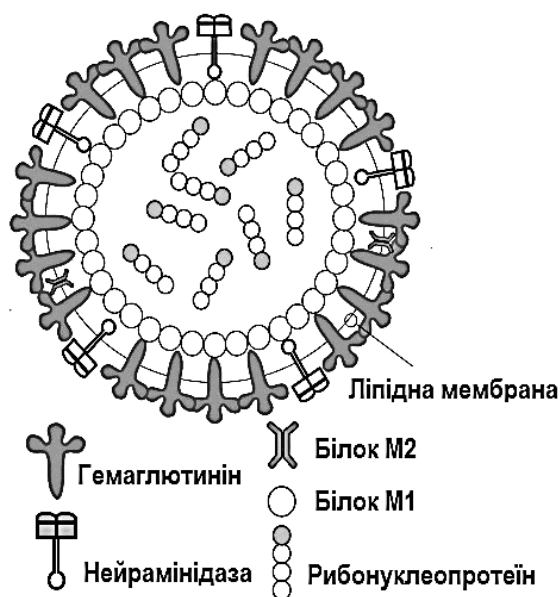
Вірус грипу А (Influenzavirus A)

Вірус грипу В (Influenzavirus B)

Вірус грипу С (Influenzavirus C)

Приналежність вірусу грипу до типу (роду) А, В або С визначається антигенними властивостями внутрішніх білків віріона (М1 і NP).

Віруси типу А і В викликають щорічні епідемії грипу, вірус грипу С викликає слабкі симптоми або протікає безсимптомно, трапляється нечасто і епідемії не викликає.



**Мал. 12.14.** Віріон вірусів родини *Orthomyxoviridae*.  
Ліворуч – схема будови, праворуч – електронна мікрофотографія віріонів.

Вірус типу А здатний заражати як людей, так і тварин. Цей тип вірусу постійно видозмінюється і провокує великі епідемії грипу. Вірус грипу В поширюється тільки серед людей, але викликає менш важку реакцію, ніж тип А, і не викликає пандемій. Вірус грипу С уражає тільки людей і не викликає важких симптомів і епідемії.

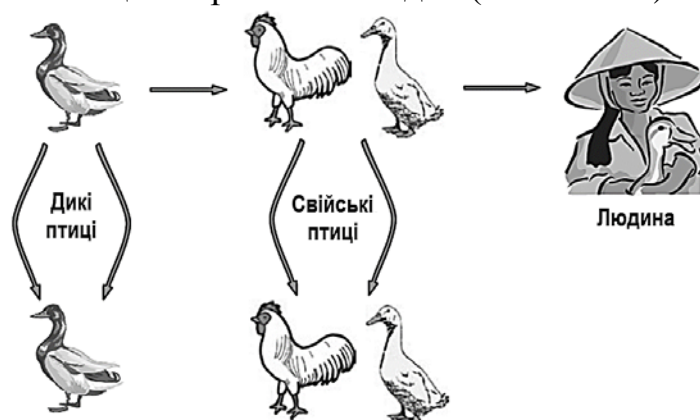
Проникнувши у верхні дихальні шляхи, вірус грипу вражає слизову оболонку, розмножуючись в епітеліальних клітинах. Виникає дистрофія клітин циліндричного епітелію, знижується бар'єрна функція слизової оболонки. Коли вірус грипу потрапляє у кров, це спричиняє розвиток загального токсикозу. За інтоксикацію відповідальні ліпіди оболонки вірусу. Токсична дія проявляється у вигляді підвищення температури, ознобу, міальгій (болів у м'язах), головного болю. За оцінками, щороку на земній кулі від грипу помирає до 500000 чоловік.

Є 16 типів антигена Н і 9 типів антигена N; у кожному типі є багато підтипів. Час від часу з'являються нові комбінації Н і N, сформовані пересортюванням генів, які викликають пандемії. Хазяями вірусу грипу А є головним чином птахи, які звичайні для водних місць життя, наприклад качки, гуси і чайки. Ці птахи придбавають вірус під час ковтання або вдихання, і вірус заражає їхні кишкові і/або дихальні шляхи. Зараження більшістю штамів вірусів не призводить до захворювання, але деякі штами високо патогенні і можуть вбивати своїх літаючих хазяїв. Віруси можуть поширюватися в нові місця під час міграції птахів.

Деякі штами вірусу грипу А заражають види ссавців, включаючи свиней, коней і людей. Основним місцем реплікації вірусу є дихальні шляхи. Зазвичай люди заражаються тільки вірусами які мають Н типу 1, 2 або 3 і N типу 1 або 2. Перебіг хвороби зазвичай досить важкий, і деякі хворі помирають, або внаслідок безпосередньої дії вірусної інфекції, або внаслідок дії вторинних патогенів, які



здатні інфікувати пошкоджений вірусами епітелій дихальних шляхів. Така ситуація спостерігається зазвичай. Проте іноді деякі штами грипу А, що заразили перелітних птахів, можуть виявитися високо патогенними для птахів, здатні переходити на свійських птиць і перейти на людей (Мал. 12.15).



*Мал. 12.15. Шляхи передачі вірусу «пташиного грипу» H5N1 і H9N2 (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).*

Така ситуація сталася в Гонконзі в 1997 р., коли вірус типу H5N1 викликав спалах захворювання свійської птиці. Вірусом також заразилися вісімнадцятеро людей, і шість з них померло. Щоб покласти край спалаху захворювання, уся свійська птиця в Гонконзі була забита. Вірус H5N1 з'являвся в азіатських країнах в 2003 р., в Європі в 2005 р. і в Африці в 2006 році. Мільйони качок, курей і індичок померли від захворювання або були забиті; вірус H5N1 може також заразити людину, викликаючи важке респіраторне захворювання, що у багатьох випадках призводить до смерті.

Приблизно в цей же час в Азії з'явився вірус H9N2, який викликав захворювання свійської птиці з певною кількістю випадків переходу на людину. Були виявлені також інші варіанти вірусу «пташиного грипу», наприклад H7N3. Спалахи пташиного грипу серед диких або свійських птиць періодично виявляють у різних країнах. Більшість випадків захворювання людей пташиним грипом, викликаних вірусами H5N1 і H9N2, а можливо і усі такі випадки, відбувалися з людьми, які працювали зі свійською птицею і які ймовірно заразилися вірусом або під час прямого контакту з самими птахами, або з послідом птахів. Як і багато інших вірусів тварин, ці віруси пташиного грипу очевидно не мають вираженої здатності передаватися від людини людині. Вірус H5N1 заражає також інших ссавців, включаючи кішок; у зоопарку Таїланду тигри і леопарди померли від грипу в результаті зараження через живлення м'ясом курей, які містили вірус.

На грип хворіють також свині. Практично у всьому світі спалахи хвороби виникають серед свиней круглий рік, а в зонах з помірним кліматом – найчастіше восени і зимою. У багатьох країнах проводиться регулярна вакцинація популяцій

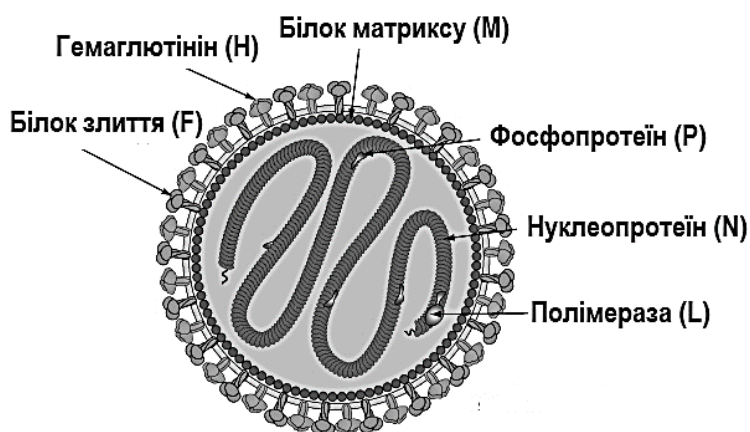
свиней від свинячого грипу. Найчастіше віруси свинячого грипу належать до підтипу H1N1, але серед свиней циркулюють й інші підтипи (наприклад H1N2, H3N1 і H3N2).

Навесні 2009 р. в Мексиці стався спалах грипу, який влада спочатку оголосила «пізносезонним грипом». Захворювання виявилось незвичайно заразним, і призвело до смерті 81 людини. Потім захворювання поширилося на США. Аналіз вірусу грипу, що викликав захворювання, показав його подібність з вірусів свинячого грипу. Так і почалася «пандемія свинячого грипу», з якою досі не можуть розібратися, чи була це пандемія, або необґрунтована паніка, або грандіозне обдурювання.

Спалах нового штаму вірусу грипу серед людей в 2009 р., який став відомим як «свинячий грип», був викликаний вірусом підтипу H1N1, який володіє найбільшою генетичною подібністю до вірусу свинячого грипу. Походження цього штаму точно не відоме. Проте Всесвітня організація по охороні здоров'я тварин (World Organization for Animal Health) повідомляє, що епідемічне поширення вірусу цього ж штаму не вдалося встановити серед свиней. Інакше кажучи, у свиней не було епідемії того вірусу, на який хворіли люди! Свині можуть бути інфіковані вірусом грипу людини, і саме це могло статися під час спалаху «свинячого грипу», коли з деяких тварин були виділені відповідні віруси.

**Родина Paramyxoviridae.** Геном являє собою несеgmentовану одноланцюгову лінійну (–)РНК.

Віріони покриті оболонкою, сферичні або плеоморфні, діаметром 150 нм або більше. Нуклеокапсид має спіральну симетрію. Довжина нуклеокапсиду досягає 1000 нм у деяких родів (Мал. 12.16).



**Мал. 12.16.** Віріон вірусів родини Paramyxoviridae. Ліворуч – схема будови, праворуч – електронна мікрофотографія.

До родини належать зокрема віруси, що викликають кір, епідемічний паротит (свинку), парагрип, чуму собак.

Кір – гостре інфекційне вірусне захворювання з високим рівнем сприйнятливості, яке характеризується високою температурою (до 40,5°C), запаленням слизових оболонок порожнини рота і верхніх дихальних шляхів, кон'юнктивітом і характерним плямисто-папульозним висипом шкірних покривів, загальною інтоксикацією.

Проникнення вірусу в організм людини відбувається через слизову оболонку верхніх дихальних шляхів і далі з потоком крові (первинна віремія) вірус потрапляє до ретикулоендотеліальної системи (лімфатичних вузлів) і вражає усі види білих кров'яних клітин. Після розмноження в лімфатичних вузлах вірус знову потрапляє в кров, розвивається повторна (вторинна) віремія, з якою пов'язаний початок клінічних проявів хвороби. Вірус кору пригнічує діяльність імунної системи (можливе безпосереднє ураження Т-лімфоцитів), відбувається зниження імунітету і як наслідок розвиток важких вторинних, бактерійних ускладнень з переважною локалізацією процесів в органах дихання.

Вірус кору є однією з головних причин дитячої смертності в країнах, що розвиваються, і є відповідальним за деяку частину дитячої смертності в розвинених країнах. Згідно з статистикою ВООЗ, в 1980 р., до впровадження широкої вакцинації в глобальному масштабі, від кору померли 2 млн. 600 тис. чоловік. Після початку вакцинації, глобальна смертність від кору знизилася до 733000 випадків смерті в 2000 р. і до 164000 випадків в 2008 році. Утім, в 2008 р. від кору помирало майже 450 осіб в день, або 18 людей в годину.

Наприкінці 20-го сторіччя в розвинених країнах кількість випадків захворювань кором знизилася до одиничних без смертельних випадків, завдяки вакцинації. Проте через розповсюдження загалом необґрунтованих побоювань відносно безпеки вакцинації, вакцинують все менше дітей. Завдяки цьому чисельність хворих почала зростати. Таким чином, віруси кору (і свинки) є вірусами, які можна назвати такими, що загрожують здоров'ю людей знову завдяки зусиллям супротивників вакцинації.

До цієї ж родини належать і відносно нещодавно виявлені віруси, Хендра і Ніпах.

**Вірус Хендра.** У 1994 р. в тренувальному комплексі Гендра (Hendra) на околиці міста Брісбен в Австралії знаменитий в Квінсленді тренер коней Вік Райл (Vic Rail), працівники стайні і більшість коней захворіли загадковою хворобою, і впродовж декількох днів тренер і 14 коней померли. Як виявилось, коні і люди були уражені вірусом, що відноситься до родини параміксовірусів. Вірус, який був виділений, раніше був невідомий; він був названий вірусом Хендра (Hendra virus).

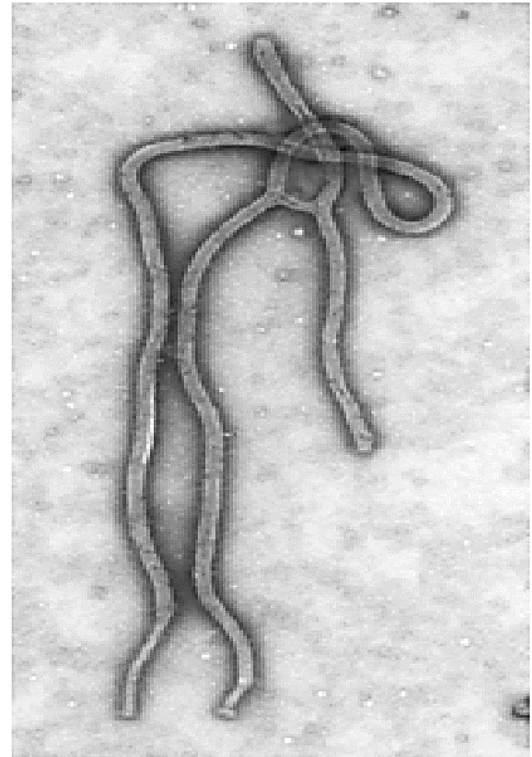
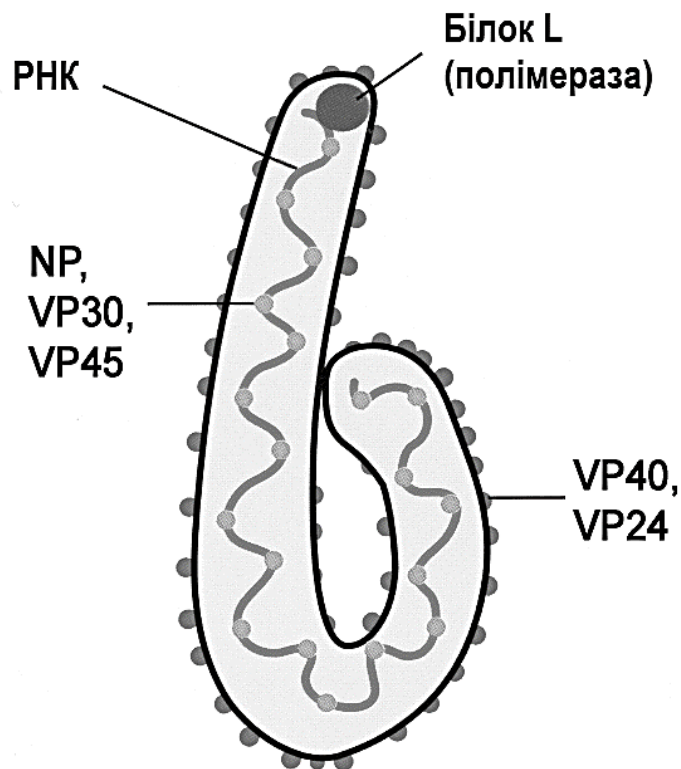
Через два роки у людини, яка жила на 800 км на північ від Хендри, стався епілептичний припадок і настав параліч. Як виявилось, він був заражений вірусом Хендра; ця людина померла від менінгоенцефаліту. З'ясувалося, що ця людина допомагала розтинати трупи двох коней 13 місяцями раніше. Тканини цих коней



зберігалися, і після їхньої перевірки виявилось, що коні містили вірус Хендра. Таким чином, виявилось, що інфіковані люди заразилися вірусом від коней, але джерело вірусу для самих коней виявилось загадкою. Були ініційовані дослідження, і отримані докази, що вірус є присутнім в популяції кажанів, що живляться фруктами; специфічні для вірусу Хендра антитіла були виявлені в усіх чотирьох локальних популяціях кажанів роду *Pteropus*, і у одного кажана був виділений інфекційний вірус. Мабуть, кажани є природними хазяями вірусу Хендра, але зараження не викликає у них ознак хвороби. Очевидно, що час від часу трапляється передача вірусу коням, і ще рідше відбувається передача від коней людям. У такому випадку результат зараження коней і людей вірусом Хендра дуже відрізняється від результату зараження кажанів – заражаючи коней і людей, вірус проявляє високу ступінь вірулентності з вірогідним летальним результатом захворювання.

**Вірус *Hinax*.** У 1997 р. в Малайзії з'явилося нове захворювання свиней. У хворих тварин розвивалися хвороби дихальних шляхів і енцефаліт. Пізніше у працівників свиноферм, де були зареєстровані хворі тварини, почав розвиватися енцефаліт. Впродовж дворічного періоду було зареєстровано декілька сотень випадків захворювання, і померли більше 100 людей. У 1999 р. з мозку одного з померлих був виділений новий вірус. Вірус виявився параміксовірусом, який мав особливості, подібні до вірусу Хендра; обидва віруси віднесені до одного роду *Henipavirus*. Виявлений вірус був названий вірусом Ніпах (*Nipah virus*), по назві селища, в якому він проявився. У спробі стримати спалах інфекції, було знищено більше мільйона свиней. Пошук природного резервуару інфекції виявив, що, як і з вірусом Хендра, джерелом вірусу є кажани роду *Pteropus*, що живляться плодами. Вірус міститься в сечі і слині кажанів, і ймовірно свині заразилися, поїдаючи фрукти, забруднені слиною і сечею кажанів-вірусоносіїв. Ситуація в Малайзії мала багато спільного з вірусом Хендра, з передачею вірусу людям через ссавця-посередника. Після спалаху захворювання в Малайзії, було декілька спалахів викликаного вірусом Ніпах енцефаліту у жителів Індії і Бангладеш, причому очевидно передача вірусів від кажанів людині відбувалася безпосередньо, без участі свиней. Найімовірніше, у Бангладеш і Індії люди заражались під час споживання фруктів або продуктів з них (наприклад, свіжого соку фінікової пальми), забруднених сечею або слиною інфікованих кажанів. Також були отримані докази прямої передачі вірусу від людини людині.

**Родина *Filoviridae*.** Геном вірусів цієї родини представляє собою несеgmentовану одноланцюгову лінійною (–)РНК. Віріони покриті оболонкою, паличкоподібні або ниткоподібні, іноді виглядають розгалуженими, сильно варіюють по довжині. Нуклеокапсид має спіральну симетрію (Мал. 12.17).



*Мал. 12.17. Віріон вірусів родини Filoviridae.  
Ліворуч – схема будови, праворуч – електронна мікрофотографія вірусу Ебола.*

До родини належать віруси Марбург і Ебола, які викликають захворювання з високою летальністю.

У 1967 р. в місті Марбург в Німеччині 31 працівник лабораторії захворів геморагічною лихоманкою. Ці люди контактували з кров'ю, органами і культурою клітин зелених мавп, яких упіймали в Уганді в Африці. Семеро хворих померли, і було п'ять випадків захворювання серед персоналу лікарні, який мав контакт з кров'ю хворих. Дослідження виявили, що мавпи були заражені вірусом, який передався співробітникам лабораторії і від них працівникам лікарні.

Вірус виявився такого типу, який раніше не траплявся, з подовженими віріонами, деякі з яких були прямими, а деякі зігнутими. Цей вірус був названий вірусом Марбург, і віднесений до родини філовірусів (Filoviridae), від латинського слова *filum*, що означає нитку.

У 1976 р. стався спалах подібного захворювання в Африці біля річки Ебола в Заїрі і Судані. У хворих був виділений вірус, подібний до вірусу Марбург, і цей новий вірус назвали вірусом Ебола. Після 1976 р. були ще ряд спалахів захворювання, викликаного вірусом Ебола, в різних районах центральної Африки. Захворювання, що викликаються вірусами, дістали назву геморагічна лихоманка Марбург і геморагічна лихоманка Ебола. Вірус Ебола виявився більш небезпечним, у випадку зараження смертність варіює від 50 до 90%.

Остання епідемія лихоманки Ебола сталася протягом 2014–2016 рр. у деяких країнах Африки, зокрема Гвінеї, Ліберії, Сьєрра-Леоне, Нігерії, Сенегалі. Летальність складала біля 60–70%; загалом від хвороби померло біля 20000 осіб, більш, ніж за період після відкриття вірусу у 1976 р. до 2014 р.

Яким чином ініціюються спалахи захворювання, залишається досить загадковим. Низка даних вказує на те, що в деяких випадках люди заражалися через контакт з кров'ю заражених нелюдиноподібних приматів. Після первинного спалаху в Німеччині стало відомо, що африканські зелені мавпи можуть бути інфіковані вірусом Марбург. Також було встановлено, що горили, шимпанзе і антилопи-дукери можуть бути заражені вірусом Ебола, і цей вірус може нести відповідальність за значну смертність у цих видів.

Природний осередок вірусу Ебола, найвірогідніше, розташований у вологих лісах африканського континенту. Радше за все джерелами інфекції є кажани, які живляться фруктами і, можливо, дрібні наземні гризуни (на цей час вірус виділили лише з декількох особин кажанів, мишей та бурозубок в Африці). Експериментальні зараження кажанів не призводили до їхньої смерті, що дало підставу підозрювати їх як головне джерело і резервуар інфекції. Дослідження показали, що обмежена циркуляція вірусу можлива серед кажанів, яких було виловлено у дикій природі в Китаї і Бангладеш.

У Кот-д'Івуарі, Республіці Конго і Габоні є документально підтверджені випадки інфікування людей вірусом Ебола в результаті контакту із зараженими шимпанзе, горилами, лісовими антилопами, дикобразами, як мертвими, так і живими. З трупів цих тварин вірус було виділено. Мавпи, антилопи, дикобрази, однак, не є первинним джерелом чи резервуаром інфекції в природі, а є випадковим, позаяк у них, як і в людей, розвивається гостре захворювання, часто з летальним наслідком. В осередках епідемій виявлено безсимптомне ураження певної кількості собак, у яких відбувається вироблення антитіл до вірусу та які, як вважають, заражаються від людей або через контакти з тваринним падлом. Люди, які заразилися в природних умовах, стають інтенсивним вторинним джерелом інфекції для здорових осіб.

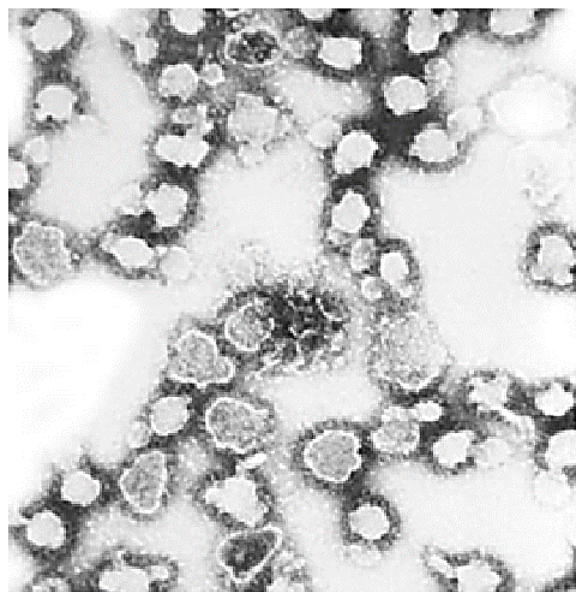
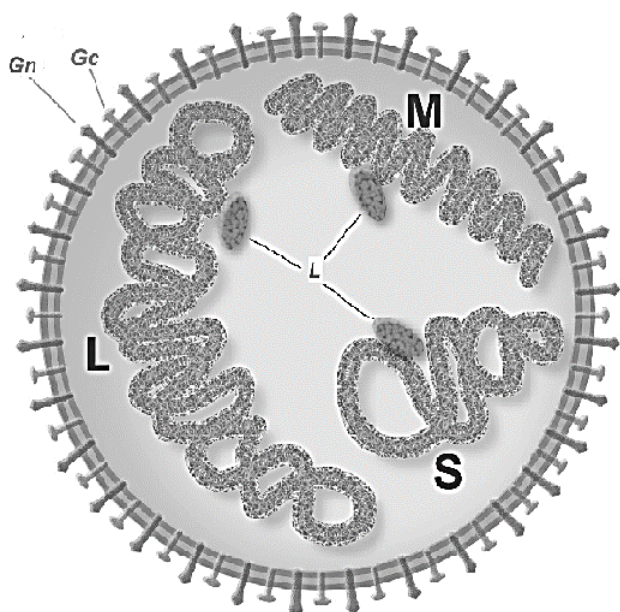
Вважається вірогідним, що декілька інших видів тварин є резервуарами вірусів Марбург і Ебола, і зараження у цих видів певно не призводить до серйозного захворювання. Незважаючи на численні експедиції, на сьогодні немає чітких даних стосовно круга хазяїв цих вірусів і видів, які є їхніми резервуарами.

**Родина Bunyaviridae.** Геном представлений трьома сегментами лінійної (–)РНК, які за рахунок спаровування останніх азотистих основ утворюють нековалентно замкнені кільця. Сегменти позначають як великий L (large), середній M (medium) і малий S (small).

Віріони мають оболонку, сферичні або поліморфні, 80–120 нм діаметром, покриті глікопротеїнами, що виступають. Нуклеокапсид зазвичай (але не завжди) має спіральну симетрію (Мал. 12.18).

До родини належить вірус геморагічної лихоманки Крим-Конго, що відноситься до роду *Nairovirus*. Це гостре інфекційне захворювання людини, що передається через укуси кліщів. Захворювання характеризується лихоманкою, вираженою інтоксикацією і крововиливами на шкірі і внутрішніх органах. Уперше виявлено в 1944 р. в Криму. Збудник виявлений в 1945-му. У 1956 р. в Конго було виявлено схоже захворювання. Дослідження вірусу встановили його повну ідентичність з вірусом, виявленим в Криму.

Природний резервуар збудника – гризуни, велика і дрібна рогата худоба, птахи, дикі види ссавців, а також кліщі, здатні передавати вірус потомству через яйця, і які є вірусоносіями довічно. Джерело збудника – хвора людина або інфікована тварина. Вірус передається через укуси кліща, або під час проведення медичних процедур, пов'язаних з ін'єкціями або забором крові. Спалахи захворювання спостерігаються на території Росії в Краснодарському і Ставропольському краю, Астраханській, Волгоградській і Ростовській областях, в республіках Дагестан, Калмикія і Карачаєво-Черкесії. Захворювання також трапляється на півдні України, в країнах південної Європи, Центральної Азії, Китаї, Центральній, Східній і Південній Африці (Конго, Кенія, Уганда, Нігерія та ін.). Смертність серед хворих варіює від 2 до 50%.



**Мал. 12.18.** Віріон вірусів родини *Bunyaviridae*. Ліворуч – схема будови, праворуч – електронна мікрофотографія. Gc і Gn – глікопротеїни, що виступають над оболонкою, L, M і S – сегменти РНК, L – білок-репліказа.

До родини також належить рід *Hantavirus*, зокрема вірус Сін Номбре.

У 1993 в регіоні південного заходу США, відомому як Чотири Кути, де сходяться штати Аризона, Нью Мехіко, Колорадо і Юта, деякі жителі почали страждати від захворювання, що нагадувало грип; у деяких з хворих виникало важке ураження легенів, і вони померли. Цей регіон США в нормі дуже сухий, проте

того р. були незвично сильні дощі, що привело до спалаху росту рослин і вибухового росту популяцій дрібних ссавців. Одним з цих ссавців був оленячий хом'як, вид, який притягується місцями життя людини. Протягом досліджень виявилось, що багато хом'яків мали персистентну інфекцію вірусу, який виділявся з їхньою сечею, екскрементами і слиною. У людей, що контактували з цими речовинами, розвивалися дихальні інфекції. Вірус був охарактеризований як новий хантавірус, і хвороба дістала назву хантавірусного легеневого синдрому.

Хантавіруси дістали назву по назві річки Хантаан в Кореї, де перші віруси були виділені у солдатів, що брали участь у війні в Кореї. У солдатів розвивалася геморагічна лихоманка з нирковим синдромом (геморагічний нефрозонефрит). Схожі віруси відомі також і в інших місцях Азії і Європи.

Відносно назви вірусу, знайденого в Чотирьох Кутах, розгорнулися палкі спори. Жителі цього району не хотіли, щоб вірус був названий з використанням назви місця, де він був виділений, оскільки не хотіли, щоб туристів відштовхувала погана слава, що оточує вірус. Врешті-решт вірус назвали іспанською назвою Сін Номбре (*Sin Nombre virus*), що в перекладі означає вірус без імені.

Після 1993 р. хантавірусний легеневий синдром, викликаний вірусом Сін Номбре, почав траплятися у багатьох частинах Північної і Південної Америки, із смертністю серед хворих близько 50%.

**Родина *Arenaviridae*.** Геном представлений двома сегментами лінійної РНК, які позначають як великий L (*large*) і малий S (*small*). Крім того, у віріоні містяться негеномні РНК клітини-хазяїна. Зазвичай аренавіруси розглядають як віруси з (–)РНК, але фактично їхня геномна РНК амбісенсова (двозначна), тобто частина кожного сегменту геномної РНК вірусів є комплементарною відповідним мРНК, а інша частина має послідовність нуклеотидів, яка співпадає з послідовністю мРНК.

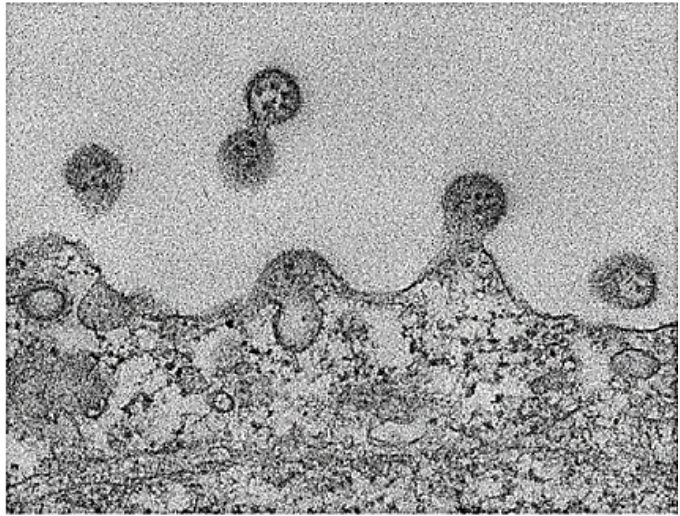
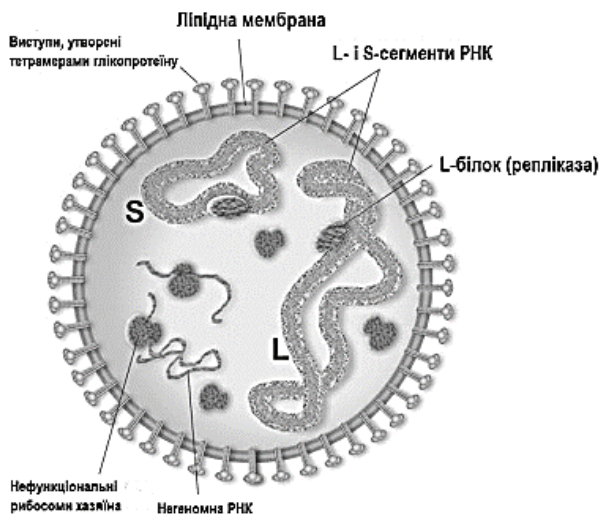
Віріони покриті ліпідною мембраною, мають щільно розташовані великі виступи на поверхні. Форма округла або плеоморфна, діаметр віріонів 50–300 нм. Два нуклеокапсиди мають форму кілець і ймовірно представлені суперспіральними структурами з лінійною організацією нуклеосомних субодиниць. Крім того, у віріон пакується різна кількість нефункціональних рибосом клітини-хазяїна (Мал. 12.19).

Аренавіруси умовно поділяють на віруси Старого Світу і Нового Світу.

Серед чотирьох вірусів Старого світу виділяють вірус лімфоцитарного хоріоменінгіту, що трапляється у гризунів по всьому світу, а також вірус лихоманки Ласса. Хвороба вперше описана у 1969 р. в м. Ласса у медсестри місіонерського госпіталю, а потім і в м. Джосе (Нігерія), хоча і до цього в Західній Африці була описана хвороба з подібними проявами під назвою «тропічний висипний тиф». Надалі спалахи цієї хвороби спостерігалися в С'єрра-Леоне і Ліберії. Існування вогнищ інфекції серологічно доведено й в інших країнах Африки (Берег Слонової Кістки, Гвінея, Малі, Мозамбік, Сенегал та ін.). Летальність досягала 36–67%.



В наступні роки лихоманка Ласса неодноразово траплялася в ряді країн Європи і Америки у медичного персоналу внаслідок зараження від хворих, які прибули із Західної Африки.



Мал. 12.19. Віріон вірусів родини *Arenaviridae*. Ліворуч – схема будови, праворуч – електронна мікрофотографія віріонів, які відбруньковуються від поверхні клітини хазяїна.

Віруси Нового світу трапляються у шурів в Південній Америці. До них належать віруси Хунін (збудник аргентинської геморагічної лихоманки), Мачупо (збудник болівійської геморагічної лихоманки) і Гуанаріто (збудник венесуельської геморагічної лихоманки).

Основний резервуар аренавірусів – різні гризуни. Для вірусів цієї родини характерна тривала персистенція в інфікованих тваринах. Вірус виділяється із сечею, слиною, виявлений у секреті респіраторного тракту. Протягом тривалого часу він зберігається у висохлих виділеннях. Гризун часто проникає в житла людей і забруднює своїми виділеннями продукти та інші предмети. Зараження людини може відбуватися аліментарним і повітряно-пиловим шляхом. Хвора людина також стає джерелом збудників інфекції і становить велику небезпеку для оточуючих. Вірус виявлений у крові, виділеннях (кал, блювотні маси, сеча), крапельках слини, а виділення вірусу хворими може продовжуватися до одного місяця і більше. Зараження може відбуватися повітряно-крапельним шляхом, а також під час попадання на шкіру (через мікротравми) крові або виділень хворого. Так інфікуються медичні працівники, що доглядають за хворими, і працівники лабораторій протягом досліджень матеріалу від хворих.

Смертність досягає 70% хворих.

## 12.6. Віруси, реплікація яких відбувається через стадію зворотної транскрипції

**Родина Retroviridae.** Родина включає дві підродина: Orthoretrovirinae і Spumaretrovirinae.

Геном у представників підродина Orthoretrovirinae складається з двох копій одноланцюгової (+)РНК. Ці дві копії утримуються разом водневими зв'язками; окрім цього, з кожною молекулою РНК через спаровування комплементарних основ сполучена молекула тРНК хазяїна, яка служитиме праймером для синтезу ДНК.

У підродина Spumaretrovirinae геном являє собою дволанцюгову ДНК; точна структура цієї ДНК залишається невизначеною. Може викликати здивування, чому до однієї родини вірусів віднесені дві підродина, які мають різні геномні нуклеїнові кислоти (РНК або ДНК). Це пов'язано з тим, що фактично ці підродина є спорідненими і їхні цикли реплікації схожі. Але віріони підродина Orthoretrovirinae мають геномні (+)РНК, і зворотна транскрипція у родини трапляється після проникнення вірусу в клітину. А у підродина Spumaretrovirinae зворотна транскрипція відбувається до вивільнення віріонів з ураженої клітини, тому віріони цієї підродина і містять ДНК. Можна сказати так, що віріони цих споріднених підродин містять генетичний матеріал, який репрезентує зсунуті за фазою етапи циклу реплікації нуклеїнової кислоти.

Віріони покриті ліпідною оболонкою, сферичні, діаметром 80–100 нм. На поверхні віріонів є виступи глікопротеїнів завдовжки 8 нм. У центрі віріона знаходиться ядро (кор), що являє собою нуклеокапсид, форма якого варіює від сферичної до паличкоподібної і конусної у різних родів.

Родина Retroviridae містить 7 родів, приклади представників яких наведені у табл. 11.2.

Табл. 11.2. Роди вірусів родини Retroviridae

Рід	Представники	Рід	Представники
<i>Alpharetrovirus</i>	Вірус саркоми Рауса	<i>Deltaretrovirus</i>	Т-лімфотропні віруси людини 1 і 2
<i>Betaretrovirus</i>	Вірус раку молочних залоз мишей	<i>Epsilonretrovirus</i>	Вірус лейкоми рогівки
<i>Gammaretrovirus</i>	Вірус лейкемії мишей	<i>Lentivirus</i>	Вірус імунодефіциту людини
<i>Spumavirus</i>	Пінистий вірус шимпанзе		

Особливістю підродина Spumavirinae («пінисті віруси») є їхня здатність викликати своєрідний ефект, що проявляється злиттям клітин. Культура клітин, уражених цими вірусами, виглядає як би спіненою, звідси назва – «пінисті». Віруси поширені всюди, екзогенні, знайдені у багатьох ссавців. У 1960–1970-х рр. віруси цієї підродина були виділені від мавп, людини, кішки, хом'яка, бика та ін. Хоча в природних умовах представники Spumavirinae рідко викликають хворобу

у своїх хазяїв, але вони здатні викликати нейродегенерацію, коли їх експресують як трансген у мишей, і можуть інфікувати різні види ссавців, у тому числі людей. Природного інфікування людей не зареєстровано, відзначалися окремі випадки зараження людей від нелюдиноподібних мавп. Стосунку спумавірусів до якоїсь відомої патології доки не встановлено, в той же час потрібно розуміти і те, що вони існують завдяки ресурсам клітини.

**Ендогенні ретровіруси.** Впродовж деякого часу було відомо, що геноми хребетних тварин містять ретровірусні послідовності. Нині в геномі людини виявлені майже 100000 ретровірусних послідовностей; їх виявляють в кожному новому виді, геном якого секвенують. Послідовності більшості цих ендогенних ретровірусів є дефектними.

Деякі з цих послідовностей близько споріднені з нормальними ретровірусами. Дуже імовірно, що ці ретровірусні послідовності з'явилися під час зараження ретровірусом зародкової лінії клітин, тобто сперматозоїдів і/або яйцеклітин. Час від часу ендогенні ретровіруси копіюють самі себе в інші частини генома, створюючи родини споріднених ендогенних ретровірусних елементів.

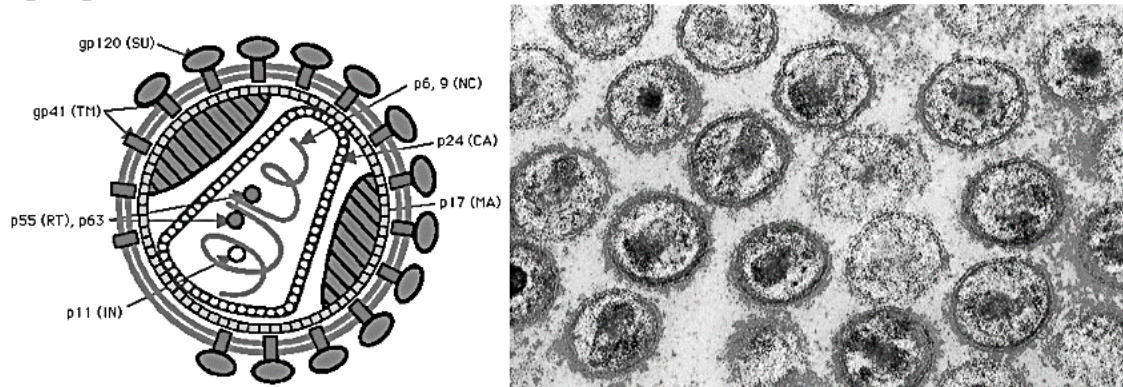
Оскільки ендогенні ретровірусні послідовності дефектні, вони не можуть нормально реплікуватися. Проте в деяких випадках реплікація може відбуватися. Порушену функцію одного ретровірусу може доповнити послідовність іншого ретровірусу або екзогенного ретровірусу, який заразив клітину. Деякі ендогенні ретровіруси не можуть реплікуватися в клітинах видів, в яких вони трапляються, але починають реплікуватися в клітинах інших видів; наприклад, деякі ендогенні ретровіруси мишей і свиней реплікуються в клітинах людини. Деякі ендогенні ретровіруси не є дефектними, він мають повний геном і можуть ініціювати продуктивну інфекцію.

**Вірус імунодефіциту людини.** Відомо два типи вірусу імунодефіциту людини – ВІЛ-1 і ВІЛ-2. Їхнє походження пов'язане з двома різними вірусами імунодефіциту мавп (ВІМ). ВІМ не є небезпечним для своїх хазяїв-приматів, але ВІЛ руйнує імунну систему, внаслідок чого тіло людини стає сприйнятливим до зараження широким колом бактерій, вірусів, грибів і протистів. Такий стан зветься синдромом набутого імунодефіциту (СНІД). Слід звернути увагу, що неправильно буде сказати «вірус ВІЛ», оскільки тут слово вірус є зайвим. Не слід також говорити «вірус СНІДу» або «заражений СНІДом».

ВІЛ-1 поширений значно ширше, ніж ВІЛ-2; саме ВІЛ-1 відповідальний за пандемію СНІДу. Поширеність ВІЛ-2 обмежується Західною Африкою. За оцінками, нині щороку в середньому відбуваються 5 млн. нових випадків зараження ВІЛ, і приблизно 5 млн. смертей від СНІДу, який став четвертою по важливості причиною смерті у людей. Небезпека цієї проблеми привела до виділення величезних ресурсів на розробку противірусних препаратів і вакцини. Певний успіх був досягнутий в розробці противірусних препаратів, надійну вакцину створити доки не вдалося.



Віріон ВІЛ має усі особливості віріонів ретровірусів, проте, на відміну від більшості ретровірусів, нуклеокапсид має конусну форму, з діаметром 40-60 нм на широкому кінці і 20 нм у вузькому кінці (Мал. 12.20). Зазвичай у віріоні буває один капсид, хоча спостерігали віріони з двома і більше капсидами. Загальний діаметр віріона складає 80–110 нм.



**Мал. 12.20.** Віріон ВІЛ. Ліворуч – схема будови, праворуч – електронна мікрофотографія віріонів. МА – білки матриксу, СА – білки капсиду, NC – нуклеокапсид, SU – глікопротеїни поверхні, ТМ – трансмембранні глікопротеїни, RT – зворотна транскриптаза, IN – інтеграза.

Загальна схема реплікації ВІЛ показана на Мал. 12.21.

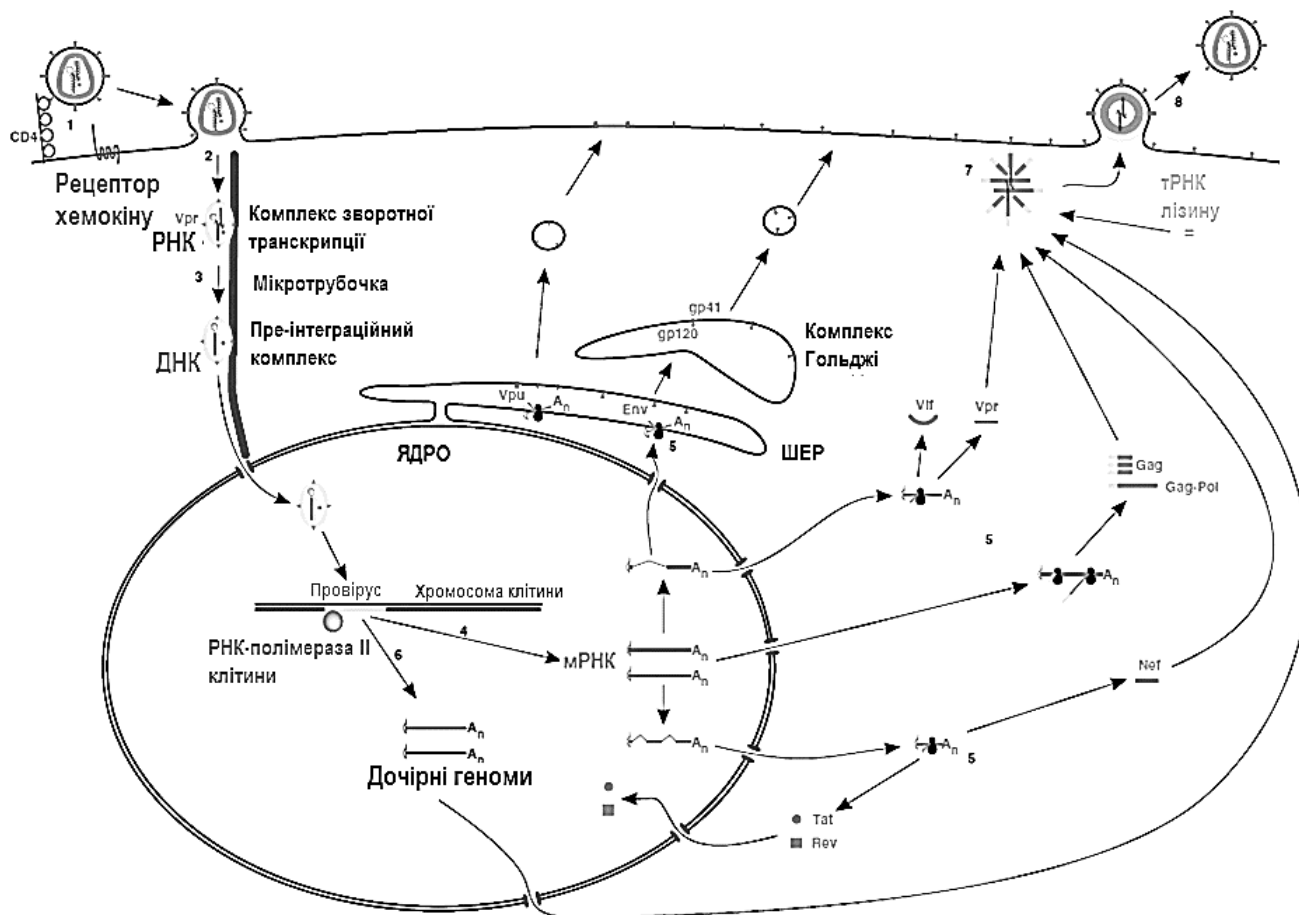
На етапі прикріплення (1) рецепторами клітини для ВІЛ-1 є білки CD4, які знаходяться на поверхні клітин декількох типів, включаючи Т-хелперні клітини і деякі макрофаги; основною мішенню є CD4 Т-лімфоцити.

Після зв'язування з рецептором, віріон ВІЛ також повинен зв'язатися з корецепторами на поверхні клітини. Корекцепторами служать рецептори хемокінів<sup>1</sup>. Протягом імунній відповіді ці рецептори зв'язують хемокіни, і ця взаємодія контролює переміщення лейкоцитів і диференціювання Т-лімфоцитів. Хемокіни за своєю структурою розподіляються на два головні класи, і для кожного з класів є свій рецептор, а саме CCR і CXCR.

Більшість штамів ВІЛ-1 як корекцептор використовують CCR5, і їх позначають як штами R5. Цікаво, що у деяких людей, які багаторазово піддавалися дії вірусу, але не заразилися, є делеція в гені *CCR5*. У гомозигот по цій мутації рецептор CCR5 не експресується, тож їхні клітини є високостійкими до зараження ВІЛ-1. Ця мутація виявлена головним чином у жителів Європи.

<sup>1</sup> Хемокіни (англ. chemokines) – родина невеликих цитокінів, що виділяються клітинами хребетних. Хемокіни об'єднує їх невеликий розмір (від 8 до 10 кДа) і наявність 4 консервативних цистеїнів, що є ключовими амінокислотами, які визначають тривимірну структуру білка. Хемокіни здатні викликати хемотаксис чутливих до них клітин (звідси їх назва хемотаксичні цитокіни, скорочено хемокіни).

Штами ВІЛ-1, які використовують як корецептор CXCR4, називають штамами Х4; є також невелика кількість штамів, які можуть використати будь-який з корецепторів. Ці штами означають як R5Х4. Штами R5 не можуть заражати наївні Т-лімфоцити, але усі три штами заражають Т-клітини імунологічної пам'яті.



**Мал. 12.21.** Головні етапи реплікації ВІЛ. Пояснення див. в тексті (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Взаємодія білка вірусу gp120 з рецептором і корецепторами призводить до змін конформації білка gp41, в результаті яких відбувається злиття мембран клітини і вірусу (2) і вміст віріона, що знаходиться в оболонці, вивільняється в цитоплазму. Тут формується комплекс зворотної транскрипції, що містить білки і геном вірусу. Після завершення зворотної транскрипції пре-інтеграційний комплекс, який містить білки вірусу і клітини-хазяїна, переміщається уздовж мікротрубочки до ядра (3). Як раніше було відмічено, більшість ретровірусів можуть викликати продуктивне зараження тільки у разі руйнування ядерної оболонки, тобто коли клітина-хазяїн ділиться. Проте пре-інтеграційний комплекс ВІЛ-1 може входити в ядра, що покояться, наприклад ядра Т-лімфоцитів, що покояться, або макрофагів. У низки білків вірусу, що входять до складу пре-інтеграційного комплексу, виявлений сигнал ядерної локалізації.

Далі відбувається інтеграція провірусу в хромосому хазяїна. Існують докази, що інтеграція провірусу в CD4 Т-лімфоцити, що покоються, може привести до латентної інфекції. Ці клітини можуть бути резервуаром інфекції в організмі, що має велике значення для виживання вірусу у людей, які одержують антивірусну терапію.

Після впровадження провірусу, в клітині відбувається експресія генів вірусу, яку підрозділяють на дві фази – ранню (4) і пізню (5). На кожній з цих фаз синтезуються свій набір білків. На завершальних етапах патогенезу синтезуються дочірні геноми (6), відбувається самозбирання вірусних часток, які не забувають прихопити лізинову тРНК хазяїна (7), і дочірні віріони вивільняються з клітини шляхом брунькування.

Незабаром після того, як людина заражається ВІЛ, відбувається значне збільшення вмісту віріонів в крові. У деяких людей в цей час спостерігається захворювання, що нагадує ангіну або грип. Імунна система хазяїна в цей період до деякої міри контролює реплікацію вірусу, і найчастіше цей період протікає безсимптомно. За умови відсутності застосування ліків, цей період в типовому випадку триває 8–10 років, проте він може бути і значно коротше, і значно довше, залежно від особливостей хазяїна і вірусу.

Впродовж усього безсимптомного періоду здійснюється екстенсивна реплікація вірусу, і за оцінками більше 1000 нових віріонів ВІЛ-1 продукується щодня. Інфекція виживає, незважаючи на імунну реакцію проти вірусу. Причин цьому декілька. Одна з них полягає в тому, що вірус вбиває клітини (CD4 Т-лімфоцити і макрофаги), які беруть участь в імунній відповіді. Відомі також дані, що неінфіковані вірусом CD4 Т-лімфоцити гинуть через індукцію апоптозу. CD4 Т-лімфоцити грають центральні ролі як хелпери різних типів клітин імунної системи, включаючи В-лімфоцити, попередники цитотоксичних Т-клітин, клітин природних кілерів і макрофагів. Таким чином, імунна реакція значною мірою виявляється порушеною.

Друга причина полягає в тому, що протягом інфекційного процесу вірус еволюціонує, утворюючи нові антигенні варіанти, які можуть не розпізнаватися антитілами і наявними Т-клітинами. Більше того, в клітинах, які містять латентну інфекцію, вірус захищений від імунної системи.

У приблизно 50% заражених людей впродовж безсимптомного періоду починають з'являтися штами ВІЛ Х4 і R5Х4; таким чином у вірусу змінюються корецептори, яким він віддає перевагу.

Деякий час тіло людини може витримувати натиск вірусу на імунну систему, швидко замінюючи зруйновані вірусом клітини новими, але концентрація CD4 Т-лімфоцитів в крові стійко знижується і досягає точки, коли в крові різко збільшується зміст вірусних часток і розвивається СНІД. Для СНІДу характерно посилене зараження людини патогенними мікроорганізмами, також швидко можуть розвинути захворювання мозку і пухлини.

Якщо порівняти між собою ВІЛ-1 і ВІЛ-2, то під час зараження ВІЛ-2 безсимптомний період триває довше, прогресування хвороби відбувається повільніше.

Впродовж реплікації генома ретровірусів з високою інтенсивністю трапляються помилки, через відсутність механізму виправлення помилок протягом синтезу ДНК на матриці РНК. Через це ВІЛ-1 є особливо мінливим вірусом, який постійно утворює нові групи і підтипи. Варіабельність ВІЛ-1 проявляється в таких особливостях, як антигени, круг клітин, що вражаються, і стійкість до антивірусних препаратів.

Високу варіабельну проявляють антигени ВІЛ-1. Білок оболонки gp120 є особливо варіабельним. Виключно висока варіабельна цього білка ймовірно обумовлена тиском добору, який виявляється з боку імунної системи хазяїна.

Коло клітин, що вражаються вірусом, залежить від корецепторів, які потрібні для прикріплення вірусу і входу його в клітину. Встановлено, що перенесення ВІЛ-1 на нового хазяїна здійснюється майже завжди штамми R5, і цей тип штамів домінує впродовж гострої і безсимптомної фази інфекції. Потім у 50% заражених людей, у міру розвитку СНІДу, зростає доля штамів типу X4 і R5X4.

Нарешті, у випадку проведення антиретровірусної терапії, присутність ліків в організмі чинить тиск добору на вірус, внаслідок чого швидко виникають стійкі варіанти.

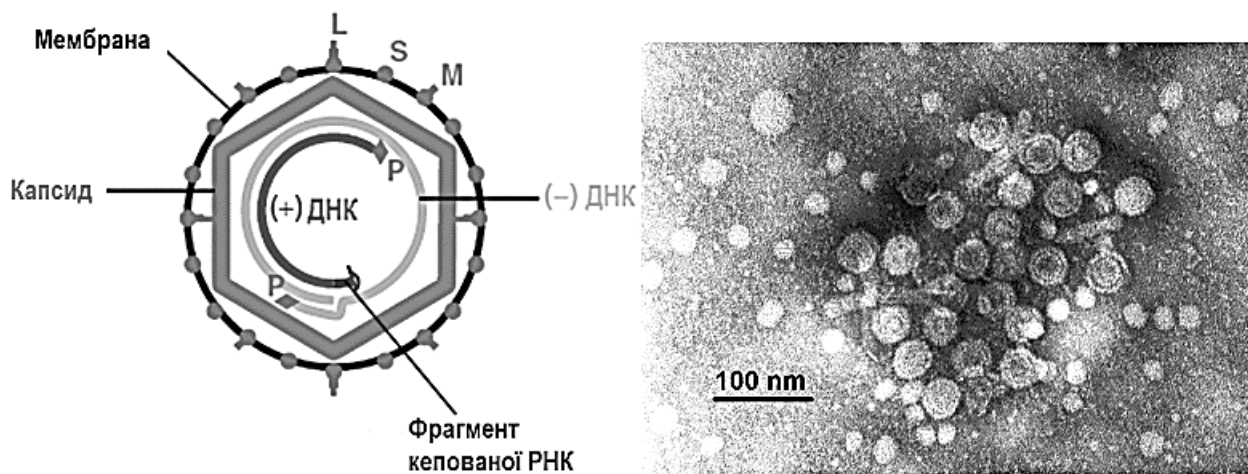
**Родина Hepadnaviridae.** Гепаднавіруси дістали свою назву, оскільки вони викликають гепатити і мають ДНК-геноми (HEPatic-DNA-virus).

Реплікація геномів вірусів цієї родини здійснюється через стадію зворотної транскрипції. ДНК-геномні віруси, які реплікуються через стадію РНК, відомі також у рослин. Ці віруси, разом з гепаднавірусами, дістали назву параретровіруси.

Деякі гепаднавіруси заражають комах, інші заражають птахів. З точки зору здоров'я людини, найбільше значення має вірус гепатиту В, оскільки він викликає небезпечне захворювання, яке може призвести до смерті.

Геном складається з частково дволанцюгової ДНК, яка замкнена в кільце за рахунок спаровування нуклеотидів. Неповний ланцюг (+)ДНК на 5'-кінці має ковалентний зв'язаний фрагмент РНК. Віріони покриті ліпідною оболонкою, сферичні, діаметром 42-50 нм. Нуклеокапсид має ікосаедричну симетрію (Мал. 12.22).

Невідомо, скільки людей заражені вірусом гепатиту В, але, за оцінками, їх близько 400 мільйонів. Більшість з них мешкає в Азії і Африці. Вірус є присутнім в крові, і шляхи його передачі загалом схожі з ВІЛ. Щороку вірусом заражаються більше 50 мільйонів людей, в основному це діти, які отримують вірус від хворих матерів. Близько 8 мільйонів заражень щорічно відбувається через повторне використання шприців, в основному в країнах, що розвиваються.



**Мал. 12.22.** Віріон вірусу гепатиту В людини. Ліворуч – схема будови, праворуч – електронна мікрофотографія віріонів. S – малий білок оболонки, M – середній білок оболонки, L – великий білок оболонки, P – полімераза (зворотна транскриптаза) (за J. Carter, Vol. Saunders, 2007).

Багато випадків зараження вірусом гепатиту В приводять до слабких симптомів хвороби або взагалі є безсимптомними, особливо у дітей. Проте протягом зараження саме дітей найімовірніше перехід вірусу в персистентну форму, коли людина на багато років стає носієм вірусу. Люди, що мають персистентну інфекцію гепатиту В, можуть залишатися здоровими впродовж тривалого часу, проте в деяких випадках може розвинути важкий гепатит, який переходить в цироз і зрештою в злоякісну пухлину печінки. З цієї причини щороку помирає близько мільйона людей.

Незвичайною особливістю інфекційного процесу, викликаного вірусом гепатиту В, є присутність в крові не лише віріонів, але також великої кількості неінфекційних часток, які вивільняються із заражених вірусом клітин. Ці частки складаються з ліпідів і білків оболонки вірусу, але вони не містять нуклеокапсиду. Ці частки можуть бути сферичної або нитчастої форми.

Віріони вірусу і неінфекційні частки набагато численніші в крові, ніж у печінці, і неінфекційні частки значно перевершують за кількістю віріони. Як відмічають, вірус очевидно має переконливу причину для продукування такої кількості неінфекційних часток, але ця причина залишається незрозумілою. Припускають, що ці частки є свого роду підсадними качками для антитіл, переймаючи на себе їхню атаку і таким чином захищаючи віріони від імунної системи хазяїна, проте остаточних доказів цьому припущенню доки немає.

На додаток до віріонів і неінфекційних часток, в крові заражених людей також знаходять розчинний вірусний білок. Цей білок відомий як е-антиген гепатиту В (HBeAg). Він подібний до білка капсиду вірусу, але має додаткові 10 амінокислотних залишків на С-термінальному кінці. Функція або функції цього білка залишається невідомою.

Після ознайомлення з цим розділом ви повинні:

- Знати характеристику головних родин вірусів, які викликають захворювання людини і тварин
- Знати збудників найбільш небезпечних вірусних захворювань людини

### Додаткове читання до розділу 12.

1. Архипова Е. И., Исаков В. А. Социальная значимость распространения герпеса и ВИЧ-инфекции. Современные подходы к профилактике и лечению // Матер. научной сессии ННЦ СЗО РАМН (сб. научн. трудов). В. Новгород: Медицина, 2003. Т.2. С. 66–76.
2. Кускова Т.К., Белова Е.Г. Семейство герпес-вирусов на современном этапе // <http://www.lvrach.ru/2004/05/4531295/?format=print>
3. Липатов А.С., Смирнов Ю.А., Каверин Н.В., Вебстер Р.Г. Эволюция вирусов гриппа птиц H5N1 с 1997 по 2004 г. в Южной и Юго-Восточной Азии // Вопросы вирусологии. 2005. Т.50, №4. С. 11–17.
4. Пейлиз П., Кингсбери Д.У. Генетика вирусов гриппа. М.: Медицина, 1986. 366 С.
5. Степаненко Р.Л. Генітальна папіломавірусна інфекція: сучасний стан проблеми та перспективи її розв'язання // Укр. жур. дерматолог. венеролог. косметолог. 2009. №2. С. 88–105.
6. Чурина Е.Г., Уразова О.И., Новицкий В.В., Наследникова И.О., Воронкова О.В., Слепичева Н.Р. Особенности иммуносупрессии при вирусных инфекциях // Бюллетень сибирской медицины. 2009. № 4. С. 112–118.
7. Athanasopoulos T., Fabb S., Dickson G. Gene therapy vectors based on adeno-associated virus: characteristics and applications to acquired and inherited diseases (review) // Int. J. Mol. Med. 2000. V6, N. 4. P. 363–375.
8. Clark B., McKendrick M. A review of viral gastroenteritis // Curr. Opin. Infect. Dis. 2004. Vol.17, №5. P. 461–469.
9. Efsthathiou S., Preston C.M. Towards an understanding of the molecular basis of herpes simplex virus latency // Virus Res. 2005. Vol.111, №2. P. 108–119.
10. Fauci A.S. Host factors and the pathogenesis of HIV-induced disease // Nature. 1996. Vol.384, №6609. P. 529–534.
11. Howard R.S. Poliomyelitis and the postpolio syndrome // BMJ. 2005. V330, №7503. P. 1314–1318.
12. Mogensen T.H., Melchjorsen J., Larsen C.S., Paludan S.R. Innate immune recognition and activation during HIV infection // Retrovirology. 2010. doi: 10.1186/1742-4690-7-54.
13. Satija N., Lal S.K. The molecular biology of SARS coronavirus // Ann. N. -Y. Acad. Sci. 2007. Vol.1102. P. 26–38.
14. Sinclair J., Sissons P. Latency and reactivation of human cytomegalovirus // J. Gen. Virol. 2006. Vol.87(Pt 7). P. 1763–1779.

## ДЖЕРЕЛА ІЛЮСТРАЦІЙ

1. Arslan D., Legendre M., Seltzer Vol., Abergel C., Claverie J.M. Distant Mimivirus relative with a larger genome high-lights the fundamental features of Megaviridae // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2011. Vol. 108, N42. P. 17486–17491.
2. Carter J., Saunders Vol. Virology: principles and applications. Chichester, England, John Wiley & Sons Ltd. 2007. 358 pp
3. Dimmock N. J., Easton A.J., Leppard K.N. Introduction to modern virology: 6th ed. Malden: Blackwell Publishing. 2007. 516 pp.
4. Enquist L.W., Skalka A. M., Flint S. J., Rall G. F., Racaniello, Vol. R. Principles of Virology, Vol. 1. Washington, DC: ASM Press, 2015. 574 pp.
5. Flores R., Gago-Zachert S., Serra P. , Sanjuán R., Elena, S. F. (). Viroids: survivors from the RNA world? // Annual review of microbiology. 2014. Vol. 68. P. 395-414.
6. King A.M.Q., Adams M.J., Carstens EB., Lefkowitz E.J. Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. London: Academic Press, 2012. 1372 pp.
7. Raoult D., Forterre P. Redefining viruses: lessons from Mimivirus // Nat. Rev. Microbiol. 2008. Vol. 6, N4. P. 315–319.



## ЗМІСТ

<b>Розділ 1. Що таке віруси?</b>	6
1.1. Історія вірусології	6
1.2. Природа вірусів	15
<b>Розділ 2. Вірусна частка</b>	25
2.1. Структурні компоненти віріонів	25
2.2. Морфологія віріонів	26
2.3. Розмір віріонів	28
2.4. Принципи структурної організації віріонів	28
2.5. Будова та симетрія капсидів	31
2.6. Будова ліпідних оболонок віріонів	38
2.7. Хімічний склад віріонів	39
<b>Розділ 3. Класифікація вірусів</b>	44
3.1. Основні підходи до класифікації вірусів	44
3.2. Класифікація за типом захворювання	44
3.3. Класифікація за систематичною приналежністю хазяїна	44
3.4. Класифікація за морфологією вірусних часток	45
3.5. Класифікація Девіда Балтимора на основі складу нуклеїнових кислот і механізмів синтезу мРНК	45
3.6. Філогенетична класифікація вірусів	47
3.7. Номенклатура вірусів	49
<b>Розділ 4. Реплікація вірусів у клітині хазяїна</b>	51
4.1. Основні етапи реплікації вірусів	51
4.2. Вхід до клітини і внутрішньоклітинний транспорт	52
4.3. Експресія генів вірусів	65
4.4. Реплікація вірусної нуклеїнової кислоти	81
4.5. Збирання (морфогенез) вірусних часток і вихід віріонів з клітини	109
4.6. Вихід віріонів з інфікованої клітини	115
4.7. Дефектні вірусні частки. Помилки під час збирання віріонів	116
4.8. Взаємодії між вірусами під час змішаної інфекції	120
<b>Розділ 5. Взаємодія вірусу з цілим організмом</b>	123
5.1. Наслідки зараження вірусом хазяїна	123
5.2. Чинники, що впливають на результат вірусної інфекції	124
5.3. Запрограмована загибель клітин	132



5.4. Непродуктивна інфекція.....	134
5.5. Продуктивна інфекція.....	135
<b>Розділ 6. Розповсюдження вірусів .....</b>	<b>138</b>
6.1. Загальні принципи розповсюдження вірусів .....	138
6.2. Принципи передачі вірусів за допомогою векторів .....	140
6.3. Передача вірусів рослин.....	140
6.4. Передача вірусів хребетних.....	142
6.5. Передача вірусів безхребетних тварин.....	143
6.6. Пермісивні клітини.....	144
<b>Розділ 7. Вірусний канцерогенез.....</b>	<b>146</b>
7.1. Загальні уявлення про канцерогенез .....	146
7.2. Приклади пухлин, виникнення яких пов'язано з вірусами .....	146
7.3. Як саме віруси викликають рак .....	150
7.4. Запобігання розвитку індукованих вірусами ракових пухлин .....	155
<b>Розділ 8. Засоби боротьби з хворобами, що викликаються вірусами .....</b>	<b>157</b>
8.1. Вірусні вакцини.....	157
8.2. Протівірусні препарати .....	162
<b>Розділ 9. Патогенез пріонних захворювань.....</b>	<b>169</b>
9.1. Загальні відомості про пріони .....	169
9.2. Природа пріонів.....	169
9.3. Захворювання, що викликаються пріонами.....	171
<b>Розділ 10. Походження та еволюція вірусів .....</b>	<b>176</b>
10.1. Походження вірусів.....	176
10.2. Еволюція вірусів .....	179
<b>Розділ 11. Головні методи досліджень і ідентифікації вірусів .....</b>	<b>188</b>
11.1. Культивування вірусів.....	188
11.2. Виділення вірусів.....	191
11.3. Дослідження структури клітин і віріонів .....	193
11.4. Ідентифікація вірусів і їхніх компонентів.....	194
11.5. Вивчення генетики вірусів.....	196
<b>Розділ 12. Віруси, що викликають захворювання людини і тварин .....</b>	<b>199</b>
12.1. Віруси з дволанцюговою ДНК .....	199
12.2. Віруси з одноланцюговою ДНК.....	203
12.3. Віруси з дволанцюговою РНК.....	206

12.4. Віруси, що містять плюс-ланцюг РНК.....	208
12.5. Віруси, що містять мінус-ланцюг РНК.....	218
12.6. Віруси, реплікація яких відбувається через стадію зворотної транскрипції .....	230

ДЛЯ НОТАТОК

ДЛЯ НОТАТОК

*Навчальне видання*

Шамрай Сергій Миколайович  
Леонт'єв Дмитро Вікторович

## Вірусологія

Підручник

Друкується в авторській редакції  
Оригінал-макет підготовлено С. М. Шамраєм.  
Дизайн обкладинки – Д.В. Леонт'єв.

Підписано до друку 28.01.2020.  
Формат 21,0×29,7. Папір офісний.  
Гарнітура Times New Roman.  
Друк офсетний. Ум. др. арк. 15,25.  
Наклад 300 прим.